

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 195—206

Die klinische Bedeutung von Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn

Von W. RAAB

Aus dem medizinisch-chemischen Institut (Vorstand Prof. Dr. Franz Seelich) der Universität Wien

(Eingegangen am 20. Januar 1972)

In der vorliegenden Übersicht werden die wichtigsten tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn zusammengestellt, um dem Kliniker und klinischen Biochemiker anhand der vorliegenden Information weitere Anregungen zur Anwendung einer zwar technisch etwas aufwendigen, jedoch bereits breit geprüften und als gut brauchbar gefundenen Methode der modernen Osteologie zu geben. Ein eigener Abschnitt dieser Übersicht ist den verschiedenen Methoden der Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn gewidmet.

The clinical significance of urinary hydroxyproline determinations

In this review, the most important experimental and clinical data on changes in urinary hydroxyproline are compiled. This information prepared for the clinician and the clinical chemist might initiate the further application of urinary hydroxyproline determinations. In modern osteology, the determination of urinary hydroxyproline is considered to be a valuable measure for all kind of osseous changes. The various methods for urinary hydroxyproline determination are compiled in a special section.

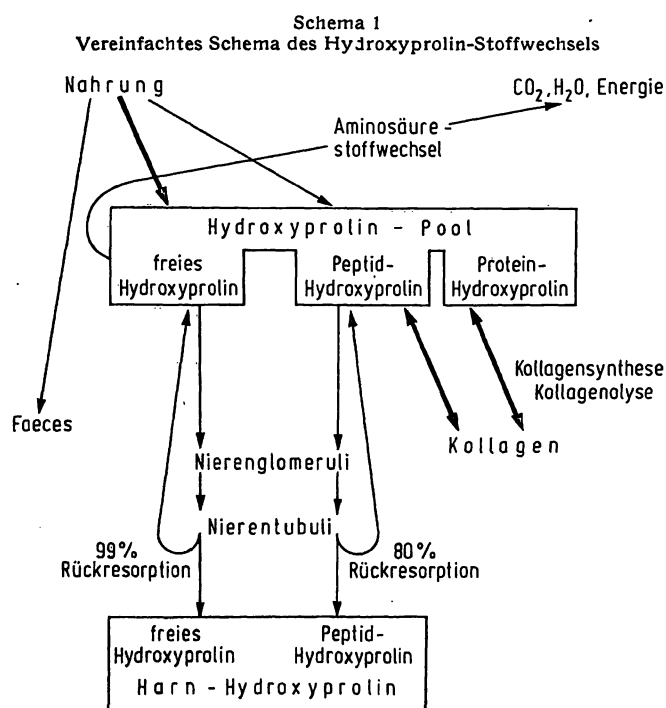
Die Aminosäure Hydroxyprolin kommt im menschlichen (und tierischen) Organismus ausschließlich im Kollagen und Elastin vor. Da Elastin nur eine äußerst geringe Umbaurate aufweist, lassen sich Veränderungen des Hydroxyprolin-Stoffwechsels direkt auf Änderungen des Kollagenstoffwechsels zurückführen.

Kollagen macht etwa 30% der gesamten Körperproteine aus und kommt als wichtigstes Skleroprotein (1) im Knochen, im Knorpel, in der Haut sowie in Sehnen, Gelenkkapseln, Gefäßen, Muskeln und Organ-kapseln vor. Nur im Knochen, dessen Matrix (= organische Bestandteile) zu etwa 90% aus Kollagen besteht, erfolgt ein ständiger Ab- und Aufbau, weshalb Untersuchungen des Hydroxyprolin-Stoffwechsels Rückschlüsse auf den Kollagenstoffwechsel im Knochen erlauben (2).

Im Plasma und in den Gewebsflüssigkeiten liegt Hydroxyprolin in drei Formen vor: als freie Aminosäure, als peptidgebundenes Hydroxyprolin und als proteingebundenes Hydroxyprolin. Der „Hydroxyprolinpool“ in seiner Gesamtheit wird von folgenden Faktoren beeinflusst: Aufnahme von Hydroxyprolin mit der Nahrung, Ausscheidung von Hydroxyprolin durch die Niere (zum Großteil nach glomerulärer Filtration wieder tubuläre Rückresorption), Abbau von freiem Hydroxyprolin über den Aminosäurestoffwechsel und vom Auf- und Abbau des Kollagen (Knochenkollagen). Wie auch Untersuchungen mit ^{14}C -Prolin bestätigen konnten (3), herrscht in Wachstumsphasen die Synthese vor (Überschwemmung des Hydroxyprolinpools mit Vorstufen der Kollagensynthese), während im Erwachsenenalter der Abbau des Kollagen von mindestens gleichgroßer Bedeutung ist (Überschwemmung des Hydroxyprolinpools mit Abbauprodukten des Kollagen). Die wichtigsten Beziehungen

im Hydroxyprolinstoffwechsel sind in Schema 1 zusammengestellt.

Das Hydroxyprolin des Harnes, welches sich unter bestimmten Bedingungen (vgl. S. 197) in direkte Beziehung zum Hydroxyprolin-Pool setzen läßt, besteht nur zum geringsten Teil (etwa 3%) aus der freien Aminosäure; 97% des Hydroxyprolins liegen in Form von Peptiden vor (4, 5, 6). Die Molekulargewichte der Hydroxyprolin-haltigen Harnpeptide schwanken zwischen 600 und 7000 (7, 8); 25% des Hydroxyprolins werden in Form von Peptiden mit einem Molekulargewicht über 1000 ausgeschieden. An diesem Ver-



hältnis ändert sich auch unter pathologischen Bedingungen in der Regel nur wenig. Erwähnenswert scheint Vorkommen von Hydroxyprolin-haltigen Glykopeptiden im Harn (9).

Veränderungen im Hydroxyprolin-Pool lassen sich auch durch Bestimmungen des Hydroxyprolin im Serum feststellen; hier findet sich ebenfalls freies Hydroxyprolin, peptidgebundenes Hydroxyprolin und proteingebundenes Hydroxyprolin (10–14), wobei das Hydroxyprolin-haltige Protein des Serums auch als kollagenartiges („collagen-like“) Protein bezeichnet wurde (11). Einige Untersucher haben bei Knochenerkrankungen signifikante Veränderungen des Plasma-Hydroxyprolins festgestellt (1). Die prozentualen Zunahmen waren jedoch weit geringer als bei den Hydroxyprolinwerten im Harn, weshalb sich trotz der etwas einfacheren Methode die Untersuchung des Plasma-Hydroxyprolins bisher nicht so recht durchsetzen konnte.

Zur Erfassung und Verlaufsbeurteilung von Kollagenstoffwechselstörungen — in erster Linie von Knochenerkrankungen — hat sich die Bestimmung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn ausgezeichnet bewährt. Im Gegensatz zu den meisten anderen Untersuchungsmöglichkeiten bei Skelettveränderungen bedeutet die Vornahme der Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn für den Patienten nur eine geringe Belastung und kann beliebig oft wiederholt werden. Das Ergebnis einer gesteigerten Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn muß jedoch mit Vorsicht interpretiert werden: erhöhter Knochenaufbau (z. B. Osteodystrophia deformans PAGET) und gesteigerter Knochenabbau (z. B. osteoklastische Carcinometastasen) verursachen gleichsinnige Veränderungen. Gleichzeitig durchgeführte klinische, klinisch-chemische, röntgenologische oder morphologische Untersuchungen werden jedoch rasche Klärung bringen.

Heute liegen bereits eine große Zahl klinischer und tierexperimenteller Untersuchungen über Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn vor. Von besonderem Wert sind für den Kliniker die Verlaufsbeobachtungen bei Patienten unter verschiedenen Therapieformen. Die anfänglich großen methodischen und klinischen Schwierigkeiten konnten weitgehend gemeistert werden. Im folgenden sollen nach einer kurzen Besprechung der biochemischen Grundlagen und der tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse die für den klinischen Chemiker wichtigsten Methoden der Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn zusammengestellt werden, und dann anhand der zahlreichen vorliegenden klinischen Berichte und des eigenen Untersuchungsgutes der letzten fünf Jahre eine praktisch klinische Wertung der Untersuchung des Hydroxyprolin im Harn gegeben werden.

Biochemische Grundlagen

Kollagen, welches den größten Teil der Knochenmatrix ausmacht (15), enthält 10–14% Hydroxy-

Tab. 1
Aminosäuren des menschlichen Kollagens (nach I. c. (18))

	Knochen-compacta	Sehnen
Hydroxyprolin [%]	10,0	9,2
Prolin [%]	12,3	12,6
Hydroxylysin [%]	0,35	0,89
Lysin [%]	2,8	2,2
Glycin [%]	31,9	32,4

prolin (16–18). Die Aminosäurezusammensetzung menschlichen Kollagens ist in Tabelle 1 zusammengestellt. 95% des Hydroxyprolin im Organismus liegt im Kollagen vor (19). Nur Elastin enthält auch Hydroxyprolin (16, 20). Mit zunehmendem Alter verringert sich der Hydroxyprolingehalt von Knochen und Knorpel (21), beim Muskel (Fibrose) steigt der Hydroxyprolingehalt im Gegenteil jedoch an (22).

Freies Hydroxyprolin kann zur Kollagensynthese nicht verwendet werden. Das Hydroxyprolin im Kollagen entsteht durch enzymatische Hydroxylierung von Prolin, welches bereits in Peptide eingebaut sein muß (23–31).

Im Harn erscheinen freies Hydroxyprolin und hydroxyprolinhaltige Peptide, wobei nur letztere — insbesondere das Dipeptid Prolylhydroxyprolin mit etwa 60% Gesamtanteil und das Tripeptid Glycylprolylhydroxyprolin — in Beziehung zum Kollagenstoffwechsel stehen (4–9, 32–35).

Hydroxyprolinpool und Hydroxyprolinbelastung

Bei der Aufnahme von Hydroxyprolin mit der Nahrung gelangt die Aminosäure in freier Form in den Hydroxyprolinpool; bei überreichlicher Zufuhr von Fleisch oder Gelatine (z. B. 25 g/Tag) werden auch hydroxyprolinhaltige Peptide resorbiert (1). Bis zu 15% des oral zugeführten Hydroxyprolin werden mit dem Stuhl wieder ausgeschieden (1).

Störungen der Nierenfunktion (gestörte Rückresorption) führen zu Veränderungen im Hydroxyprolinpool, die Kollagenstoffwechselstörungen vortäuschen können.

Folgerungen für die Verwertbarkeit der Hydroxyprolin-Bestimmungen im Harn

Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn geben nur dann verwertbare Auskünfte über den Knochenkollagenstoffwechsel, wenn

— für jede Altersgruppe ein eigener Normalwert berücksichtigt wird (Änderungen in Wachstumsperioden durch gesteigerte Kollagensynthese),

— die Zufuhr von Hydroxyprolin mit der Nahrung durch mindestens 48 Stunden vor Beginn der Harnsammlung unterbleibt und

— Patienten mit gestörter Nierenfunktion von derartigen Bestimmungen ausgeschlossen werden.

Diagnostica **MERCK**

Substanz entscheidet

ob...

**Merckotest Automatenpackung
für Enzymautomaten**

MERCK

ob...

**Merckotest Reagenziensatz für die
manuelle Fotometrie**

MERCK

ob...

**Merck-1-Test Reagenziensatz für die
Einzeltest-Fotometrie**

MERCK

Merck hat alle Voraussetzungen geschaffen für die Vergleichbarkeit der Laborergebnisse in Klinik und Praxis durch standardisierte Enzymbestimmungen mit optimierten Tests:

**Alkalische Phosphatase (AP)
Cholinesterase (CHE)
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)
 α -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (HBDH)
Lactat-Dehydrogenase (LDH)
Leucin-Arylamidase (sog. LAP)**

Spezialprospekte „Merckotest Automatenpackungen“, „Merckotest“ und „Merck-1-Test“ senden wir Ihnen gern auf Anforderung zu.

E. Merck, Darmstadt

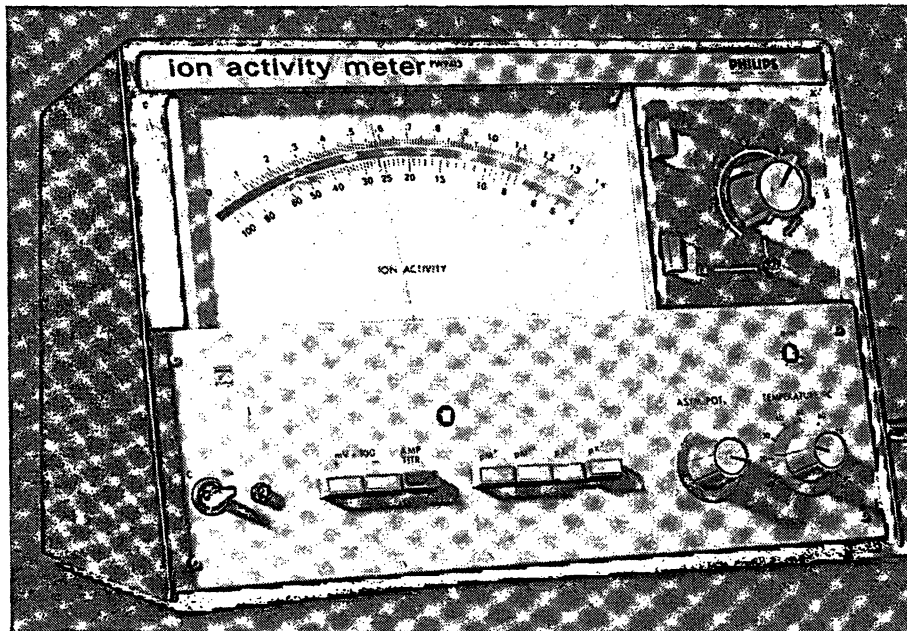
358

ionenselektiv messen ist einfach und bietet viele neue Möglichkeiten

Heute schon ist es in vielen Labors wünschenswert, Ionenaktivitäten messen zu können. Dafür stehen universelle Geräte zur Verfügung, die den höheren Anforderungen gerecht werden – für alle lieferbaren ionenselektiven Elektroden, z. B. zur Messung von pCl-, pCN-, pCa- und pNH₄-Werten. Selbstverständlich lassen sich damit auch pH-Werte und Redoxpotentiale messen. Außerdem – und das ist interessant – sind diese Geräte zusätzlich für amperometrische Titrations eingerichtet. Der finanzielle Aufwand ist gering, der Zuwachs an Anwendungsmöglichkeiten und Flexibilität dagegen erfreulich hoch.

Das Ionenaktivitäts-Meßgerät PW 9413 für ionenspezifische Messungen in Industrie und Forschung, z. B. bei der Wasser- und Abwasserüberwachung und -untersuchung – dabei sind kontinuierliche Kontrollmessungen möglich – und

Sogar bei amperometrischen Titrations genügt ein Knopfdruck. Das Meßgerät zeigt dann den Strom in μA an – direkt geeignet für Karl Fischer Titrations. Die Gleichspannung ist einstellbar zwischen 0 und 100 mV.



in der klinischen Chemie, z. B. bei der Blut-, Serum-, Speichel- und Harnuntersuchung.

Das Gerät hat eine hohe Empfindlichkeit
Dabei ist die Ablesegenauigkeit auf der 190 mm langen Skala bereits ungewöhnlich gut; sie läßt sich durch Bereichspreizung noch vergrößern.

... und eine hohe Stabilität

Dafür sorgt der Brückeneingang mit Varaktordioden.

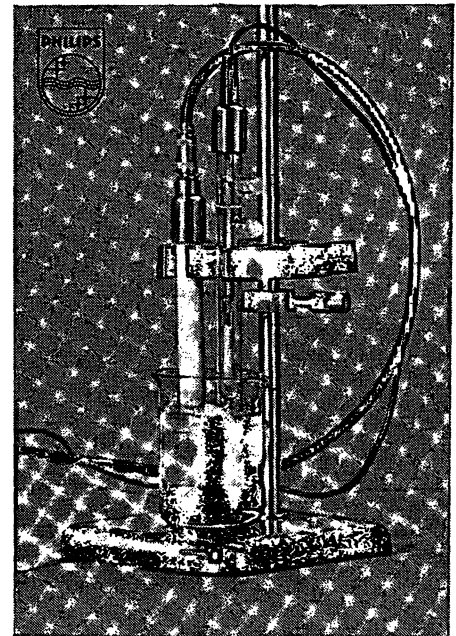
Die Bedienung ist einfach

Die Bedienelemente sind übersichtlich angeordnet. Das macht die Arbeit leicht und bequem.

Ein Knopfdruck genügt,

um ein- oder zweiwertige Anionen und Kationen vorzuwählen. Die Ionenaktivität bzw. -konzentration wird dann direkt auf dem Meßgerät abgelesen.

- Ionenselektive Elektroden**
Philips bietet ein gut sortiertes Programm an Elektroden mit hoher Selektivität, hoher Empfindlichkeit und hoher Stabilität
- mit Festkörpermembran**
Chlorid, Bromid, Jodid, Cyanid, Sulfid, Fluorid, Silber, Cadmium
- mit Flüssigmembran**
Kalium, Ammonium, Calcium
- mit Glasmembran**
Kalium, Natrium – auch Einstab-Meßketten
- Referenzelektroden**
mit Elektrolytbrücke, speziell für Messung mit ionenselektiven Elektroden
- Weitere Elektroden, z. B. für Schwermetalle, sind in Vorbereitung
- zur weiteren Information**
schickt Ihnen Philips gern ausführliches Informationsmaterial. Bitte fordern Sie es an.



normierter Stromausgang

Neben dem Spannungsausgang 0...140 mV steht ein normierter Stromausgang 0...20 mA zur Verfügung, der vom Eingang galvanisch getrennt ist und zur Ansteuerung von Folgegeräten, wie z. B. Reglern und Schreibern dient.

Meßbereich normal: 0...14 p-Einheiten, bzw. 0... ± 1400 mV; gespreizt: 1,4 p-Einheiten, bzw. ± 140 mV, in 14 Stufen um jeweils eine p-Einheit bzw. 100 mV
Eingangswiderstand 10^{13} Ohm bei 25 °C
Asymmetriepotential-Einstellung: -300...+300 mV

Steilheitskorrektur: 54,0...59,2 mV für einwertige und 27,0...29,6 mV für zweiwertige Ionen

Temperaturkompensation von Hand oder automatisch mit Pt 100 Ohm Widerstandsthermometer

Reproduzierbarkeit $\pm 0,2\%$ vom Skaleneindwert

Philips Elektronik Industrie GmbH
2000 Hamburg 63, Röntgenstraße 22
Telefon (0411) 58 01 31

Telefon-Nummern der Büros in: Berlin (0311) 24 59 08, Bielefeld (0521) 230 81-87, Dortmund (0231) 4 19 61, Düsseldorf (0211) 34 60 51/55, Frankfurt (0611) 7 91 31, Hamburg (0411) 50 10 31, Hannover (0511) 1 66 01, Kiel (0431) 73 23 88, Köln (0221) 51 42 60, Mannheim (0621) 4 20 16-18, München (0811) 7 67 91, Nürnberg (0911) 46 47 63, Stuttgart (0711) 58 90 81-83.

in Österreich: Österreichische Philips Industrie GmbH, Wien, Triester Str. 64

in der Schweiz: Philips AG, Zürich,
Postfach, Tel.: (051) 44 22 11

PHILIPS

Wir interessieren uns für das Meßgerät PW 9413 und für ionenselektive Elektroden und bitten um

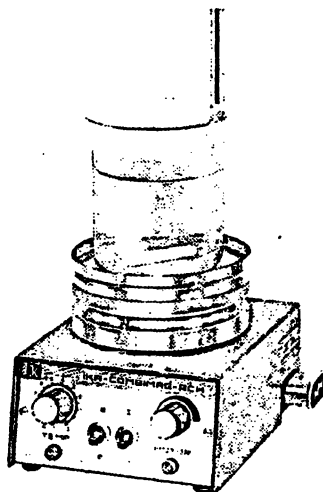
☐ Zusendung ausführlicher Unterlagen

☐ ein Angebot:

Gewünschtes bitte ankreuzen oder ergänzen

Hochwertige Laborgeräte haben einen Namen: **ORIGINAL IKA**

Für die Fachwelt ist ein Magnetrührer zum Begriff geworden: ORIGINAL IKA. Er war der erste seiner Art in Europa und ist heute noch Nr. 1. Weil nach wie vor die Technik für ihn spricht: wartungsfreier Motor ohne Kollektor und Kollektorbürsten; stufenlose Drehzahlregelung (elektrisch, mechanisch, elektronisch oder mit Preßluft); geräuschloser, vibrationsarmer Lauf; korrosionsfeste Heizplatte (Cr - Ni 18); Umkehrschaltung; reichhaltiges Zubehör. Das Programm ist vielseitig, der Name spricht für sich: ORIGINAL IKA.



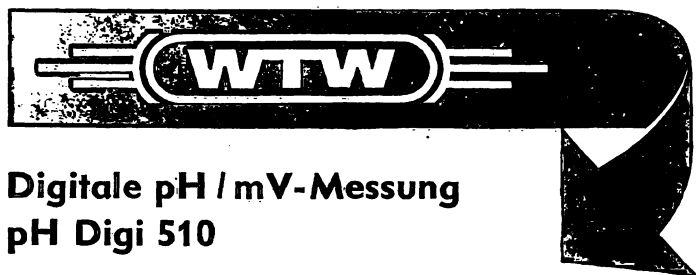
Überall, wo gerührt, geknetet, dispergiert, temperiert oder analysiert wird, gilt ORIGINAL IKA als Maßstab für Qualität. Ein breites Lieferprogramm – im engen Kontakt zu Industrie und Forschung entwickelt – wird allen Anforderungen gerecht. Neben unserer Anwendungs-technischen Abteilung stehen Ihnen über 70 Vertretungen im In- und Ausland sowie der qualifizierte Labor-Fachhandel zur Verfügung. Auf Wunsch informieren wir Sie über unsere Produktgruppen.

ORIGINAL-IKA Magnetrührer



Janke & Kunkel KG.
IKA-WERK

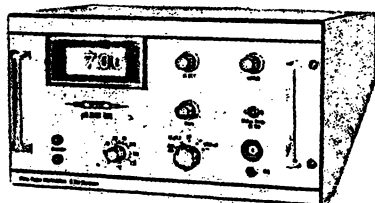
7813 Staufen bei Freiburg, Postfach 44
Tel.: (0 76 33) 60 36, Telex: 07 72 922



Digitale pH / mV-Messung pH Digi 510

- Bereich pH 0,00—14,00/ ± 1999 mV
- Genauigkeit $\pm 0,01$ pH/ ± 1 mV
- irrtumsfreie Ablesung
- angemessener Preis

Temp. Kompensation
manuell oder automa-
tisch, Schreiberausgang,
Anschluß für Drucker
BCD, Messung
aller Potentialwerte.



Fordern Sie Prospekte
über unser Gesamtprogramm an!
Bei Ihrem Fachhändler
oder direkt bei uns!

Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH
Dr. habil. K. Slevogt · 812 Weilheim · Tel. (0881) 2638/2784

Büros:

43 Essen K. Akemann, Lönberg 22, Ruf (0 21 41) 51 00 19
7401 Entringen/Tübingen W. Bohn, Uhlendstraße 7, Ruf (07 12 02) 5 66
58 Hagen H. Duckstein, Hestertstraße 64, Ruf (0 23 31) 4 58 57
635 Bad Nauheim H. Ballauff, Frankfurter Straße 39, Ruf (0 60 32) 48 60



Walter de Gruyter
Berlin · New York

Magenoperation und Magenoperierter

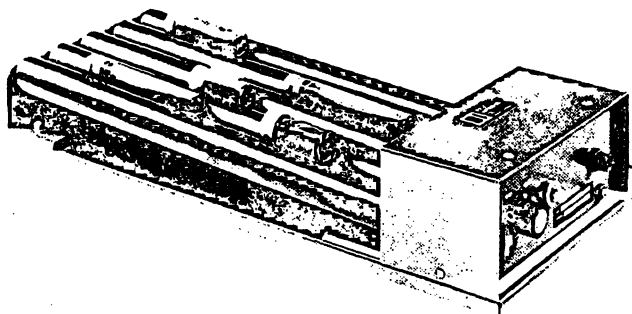
Herausgegeben von
HEINRICH BARTELHEIMER, HANS-
JOACHIM MAURER, HANS W. SCHREIBER
unter Mitwirkung von Kurt Müller-Wieland.
Mit 210 Abbildungen und 2 mehrfarbigen
Tafeln. Groß-Oktav. XVI, 489 Seiten. 1969.
Ganzleinen DM 88,—
ISBN 3 11 000819 X

Weitere Mitarbeiter: Volker Becker —
Hans Berndt — Kurt Diwok —
Eduard Farthmann — Hellmuth
Freyberger — Max Gülzow — Alfred
Gütgemann — Werner Koch — Klaus
Krentz — Friedrich Kuhlencordt —
Otto Lindenschmidt — Adolf
Luchmann — Fritz Meissner — Walther
Pribilla — Friedrich Stelzner —
Karl-Otto Vorlaender — Egmont
Wildhirt — Ludwig Zukschwerdt

For USA and Canada:
Please send all orders to Walter de Gruyter Inc.,
162 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10010

Schüttelmischer mit exzentrischen Lagern

(Multi-Axle Rotator) von Denley



Durch dieses neuartige System erhalten die eingelegten Röhrchen über die exzentrische Aufhängung der fünf parallel zueinander laufenden Wellen nicht nur die übliche Drehung, sondern gleichzeitig auch eine schaukelnde Bewegung. Die Wellen liegen zwar stets parallel zueinander, sind jedoch um 180° phasenverschoben gegeneinander angetrieben, so daß die Röhrchen während des Mischvorganges neben der ständigen Drehung Schaukel- und Kippbewegungen in einem Winkel von circa 10° unterworfen sind.

Die Röhrchen bewegen sich frei auf den Wellen und können beliebig – ohne den Mischer anzuhalten – aufgelegt oder abgehoben werden.

Probenröhrchen aus Kunststoff

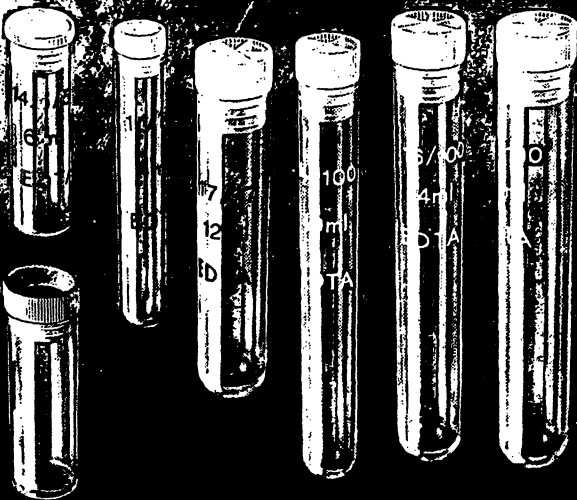
mit Antikoagulantien

EDTA-di-Kaliumsalz

Natrium-Heparinat

und farbkodiertem Schriftfeld

für klinische Chemie und Hämatologie



unsere Vorbehandlung ermöglicht exakte Meßwerte

Nürtingen

greiner

Sie gewinnen Zeit für sich und Ihre Patienten:

mit dem soeben erschienenen



Handbuch der Praxisrationalisierung

von Dr. med. HANS-JÜRGEN FRANK-SCHMIDT
und Professor Dr. Dr. EMIL HEINZ GRAUL

564 Seiten mit 406 Fotos, Zeichnungen und
Vordrucken sowie zahlreichen Tabellen, Formularen
und Vertragswerken, Plastikeinband, DM 110,-



Da kein Arzt alle organisatorischen und technischen Möglichkeiten überschauen und erst recht nicht beurteilen kann und nicht erst teure und bittere Erfahrungen selbst machen will, wird er sich des Rates von Standskollegen bedienen, die das Angebot kennen und eine Auswahl treffen. Die Auswahl durch die Verfasser erfolgte ohne kommerzielle Interessen. Der hohe Gebrauchswert des Handbuchs liegt darin, daß es optimale Problemlösungen beispielhaft darstellt. Das gesamte Angebot an Dienstleistungen, Organisationsformen und Geräten wird erschlossen.

Aus dem Inhalt:

Vor der Planung der Niederlassung: Steuerplanung

Die Planung und Finanzierung der Praxis

Leasing und was der Arzt davon wissen muß

Die Mieten einer Praxis

Der rationelle Grundriß für einen Praxisneubau

Allgemeine Baumaßnahmen für Neubauten, Umbauten und Praxiserweiterung

Gedanken zur Innenarchitektur einer Praxis:

Mobiliar, Büromittel, Labor, u. ähnl.

Die Ankündigung der Niederlassung

Die Finanzplanung nach der Niederlassung u. v. a.



J. F. LEHMANN'S VERLAG MÜNCHEN

Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung bei Versuchstieren

Obzwar auch einzelne Untersuchungen über den Hydroxyprolin-Stoffwechsel bei Affen (36), Hund (36, 37), Schwein (38), Meerschweinchen (39) und Hamster (36) durchgeführt wurden, erfolgte die Mehrzahl der Tierexperimente über Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Ratten. Bei dieser Tierart wurden auch die Untersuchungen mit ^{14}C -Prolin durchgeführt, die das Vorliegen mehrerer Fraktionen im Hydroxyprolinpool bewiesen (3, 40).

Zahlreich sind die vorliegenden Untersuchungen über die Auswirkung der Verabreichung von Hormonen wie Parathormon (41–45), Thyroxin (46–48), somatotropem Hormon (49–52) und Glukocorticoiden (40, 53–58) auf die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn der Ratte.

Weitere experimentelle Bedingungen, unter denen bei der Ratte Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn registriert werden konnten, sind Magnesiummangel (59), Rachitis (60, 61), Unterernährung (62), Knochenmetastasen (63), Knochenfrakturen (64), Verbrennung (65, 66), toxische Kollagenreifungsstörung = „Lathyrismus“ (67–71), Tyrosinbelastung (72), Verabreichung von Natriumsalicylat (73), Injektionen von Schlangengiften (74, 75) und Auslösung eines vaskulären Schocks (76, 77).

Methoden zur Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn

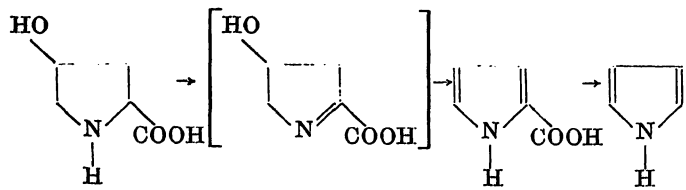
Vorauszuschicken ist die Feststellung, daß auch heute noch die Bestimmung von Hydroxyprolin im Harn zu den aufwendigsten und schwierigsten Methoden im klinisch-chemischen Laboratorium gehört. Für praktische Belange erscheint es ausreichend, das Gesamthydroxyprolin zu bestimmen; eine Trennung von freiem Hydroxyprolin und peptidgebundenem Hydroxyprolin dürfte nur bei speziellen Fragen von Bedeutung sein.

Die Ninhydrin-Methoden zum Hydroxyprolin-Nachweis (78) waren für die Untersuchung des Harnes nicht anwendbar und konnten nur zur Bestimmung einer modifizierten Gelatine im Harn herangezogen werden (79). Mit den alten Methoden der Oxydation von Hydroxyprolin mittels Natriumhypochlorit (80, 81) wurden bei der Untersuchung des Harnes auf seinen Hydroxyprolin-Gehalt nur vereinzelt verwertbare Ergebnisse erzielt; eine weite Verbreitung erfuhren diese Methoden nicht.

Den heute zur Hydroxyprolin-Bestimmung gebräuchlichen Methoden (mit Ausnahme der enzymatischen Methode, siehe später) ist gemeinsam, daß Hydroxyprolin über Zwischenstufen (vgl. Schema 2) zu Pyrrol umgewandelt wird. Der entstandene Pyrrolkörper reagiert mit Dimethylaminobenzaldehyd unter Bildung eines roten Farbstoffes, der photometrisch bestimmt werden kann. Vor der eigentlichen Hydroxyprolin-Bestimmung muß erst durch Hydrolyse (meist in

Schema 2

Die Umwandlung von Hydroxyprolin zu Pyrrol über *d*-1-Pyrrolin-4-hydroxy-2-carbonsäure und Pyrrol-2-carbonsäure (teilweise heute schon umstritten)



stark saurem Milieu bei Temperaturen um 120° über 3 Stdn.) alles im Harn vorhandene Hydroxyprolin in die freie Aminosäure übergeführt werden. — Die einzelnen angeführten Methoden, bzw. die jeweiligen Modifikationen der Standardmethoden, unterscheiden sich in ihrer Aufwendigkeit meist nur wenig; Unterschiede bestehen in der aufgewendeten Zeit, in der Störanfälligkeit insbesondere durch die Anwesenheit anderer Aminosäuren und in ihrer Empfindlichkeit, die jedoch in der Regel bis $2\text{ }\mu\text{g}$ Hydroxyprolin im Versuchsansatz reicht. Ein großes Problem stellt die Entfernung der bei der Harnhydrolyse entstehenden gefärbten, spätere Reaktionsstufen störenden Produkte dar; Gel-filtration, Ausschütteln mit Aktivkohle, Fällungen u. a. wurden zur Entfernung der störenden Harnpigmente herangezogen.

Generell gilt für alle Methoden, daß möglichst sämtliche Ansätze in Doppelbestimmungen laufen sollen und daß in jeder Serie ein Hydroxyprolin-Standard (möglichst dreifach) angesetzt werden soll.

Die erste, zur Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn breit angewendete Methode verwendete Natriumperoxid zur Oxydation des Hydroxyprolins (83). Zahlreiche Untersucher setzten diese Methode ein (84–87). Als Nachteile wurden die Störung durch Tyrosin und durch die in Anwesenheit bestimmter Ionen nur äußerst geringe Stabilität des zum Schluß entstehenden Farbstoffes angesehen. Durch eine entsprechende Modifikation konnte die Störung durch Tyrosin ausgeschaltet werden (88). Verlässlicher als die ursprünglich angegebene Methode erwies sich die Oxydation mit Wasserstoffperoxid in Anwesenheit von Kupferionen (89–91). Eine weitere Verbesserung erfuhr diese Methode durch Destillation des Oxydationsproduktes von Hydroxyprolin in die Lösung des Dimethylaminobenzaldehyds, wodurch störende Salze und Farbstoffe entfernt werden können (92, 93).

Wohl die weiteste Verbreitung erfuhr die Bestimmung von Hydroxyprolin mittels Oxydation durch Chloramin T (*p*-Toluolsulfonchloramid-Natrium) in schwach saurem Milieu; anschließend wird durch Perchlorsäure das überschüssige Chloramin T zerstört und die Reaktion mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd vorbereitet (94). Selbstverständlich ist es auch bei dieser Methode notwendig, die bei der salzsauren Hydrolyse des Harnes entstehenden Pigmente zu entfernen. In eigenen Untersuchungen bewährte sich hier das Ausschütteln mit Tierkohle und anschließende Filtration (95), wobei — im Gegensatz zu anderen Modifikationen

(96) — ein direktes Weiterarbeiten möglich wird. Eine weitere Verfeinerung brachte eine Modifikation, bei der der entstehende rote Farbstoff mit Benzol ausgeschüttelt wird, was die Empfindlichkeit der Methode erhöhen soll (97, 98). Die Reaktion des Pyrrols mit dem Dimethylaminobenzaldehyd erfolgt üblicherweise im Wasserbad bei 60°. Die Entwicklung des Farbstoffes kann auch über Nacht bei Raumtemperatur erfolgen, wobei Isopropanol als Lösungsmittel verwendet wird (99–102). Viele Untersucher fanden die verlässlichsten Ergebnisse nach Entfernung der störenden Harnpigmente durch chromatographische Reinigung (103 bis 105), Vorbehandlung mit Ionenaustauschern oder durch Fällung der störenden Anionen (105a). Nach einer anderen Modifikation wird die Oxydation mit Chloramin T durch Zugabe von Natriumthiosulfat gestoppt (106); weiter wird dann nach Sättigung mit KCl mit Toluol ausgeschüttelt, wodurch störende Substanzen entfernt werden. Erst dann wird zur Bildung von Pyrrol erhitzt, welches dann wieder mit Toluol extrahiert wird; die Bestimmung des Pyrrols erfolgt wieder nach der ursprünglichen Methode. Wesentlich erscheint bei dieser Modifikation die Zugabe einer zweiten Aminosäure (1 ml einer 10proz. Alanin-Lösung pH 8,6) zur Standardisierung der Oxydationsbedingungen (107–111). Allerdings wird die Störanfälligkeit dieser Methode nach wie vor als sehr hoch angegeben (siehe die exakten Vergleichsuntersuchungen in l. c. (111a)). Verschiedentlich wurde auch über den erfolgreichen Einsatz automatisierter Methoden für die Bestimmung von Hydroxyprolin im Harn berichtet (112–115). Wenig ausgenutzt wurde die Möglichkeit der enzymatischen Bestimmung von Hydroxyprolin im Harn. Bei guter Vergleichbarkeit mit den photometrischen Methoden zeigt diese Methode eine hohe Empfindlichkeit (bis 0,5 µg pro Ansatz) (116).

Allgemeines zur Bestimmung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn

Nierengesunde (vgl. S. 196 und l. c. (117) über die Beeinflussung des Hydroxyprolin-Stoffwechsels bei schwerem Nierenversagen) Patienten erhalten durch drei Tage Fleisch- und Gelatine-freie Diät. Am dritten Tag der hydroxyprolinfreien Ernährung erfolgt die Sammlung des 24-Stdn.-Harnes (118). Die Bestimmung des Anstiegs der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn nach oraler Gabe von Gelatine-Xylose eignet sich als funktioneller Test für die intestinale Sekretion der Bauchspeicheldrüse (119). — Bei Untersuchung von Kleinkindern (Relation Hydroxyprolin : Kreatinin im Harn) ist besonders darauf zu achten, daß keine Verunreinigung des Harns mit Stuhl vorliegt (120). Mit Ausnahme der hydroxyprolinfreien Diät sollen die Patienten eine normale Ernährung erhalten. Bei Protein- oder Kalorienmangel sinkt die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn ab (121, 122). Durch den Index mMol/l Hydroxyprolin im Harn / mMol Kreatinin/kg Körpergewicht (Normalwert 2,0–5,0, tägliche

Schwankungen bis 0,6) läßt sich das Ausmaß einer Unterernährung beurteilen (123).

Eine nur vorübergehend reduzierte Protein- und Kalorienaufnahme führt zu einem gegenteiligen Effekt: über eine Mobilisierung von Kollagen (auch aus den Knochen im Zusammenhang mit dem Calciumverlust) kommt es zum Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (124, 125). Dieser Fehlerquelle wird vielfach von seiten des Klinikers zu wenig Beachtung geschenkt. — Über ähnliche Mechanismen wie bei vorübergehendem Protein- und Kalorienmangel erfolgt auch beim Malabsorptionssyndrom (126) und bei tropischer Sprue (127) eine Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn. — Bei ernährungsbedingtem Zwergwuchs (128) liegt ebenso wie bei anderen Formen des Zwergwuchses (vgl. S. 202) eine Erniedrigung der Hydroxyprolin-Werte im Harn vor.

Bei Hydroxyprolinämie, einer durch das Fehlen der Hydroxyprolin-Oxydase charakterisierten Stoffwechselstörung, sind Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn für Fragen des Kollagenstoffwechsels unverwertbar; bei dieser Erkrankung beträgt die Tagesausscheidung an Hydroxyprolin 200 bis 300 mg, wovon 70% als freies Hydroxyprolin vorliegen (129–131).

Physiologie der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn

Physiologischerweise liegt in Wachstumsperioden ein wesentlich aktiverer Kollagenstoffwechsel vor als im Erwachsenenalter; dementsprechend finden sich bei Kindern und Jugendlichen weit höhere Hydroxyprolinmengen im Harn als bei Erwachsenen. Nach übereinstimmenden Ergebnissen verschiedener Autoren liegen die höchsten Werte in der Altersstufe zwischen 12 und 15 Jahren vor (132–134). Das Ausmaß der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn läßt sich zur Intensität des Wachstums in Beziehung setzen (35, 135). In Tabelle 2 findet sich die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn von Kindern und Jugendlichen verschiedener Altersstufen zusammengestellt. Der Hydroxyprolin/Kreatinin-Index, der in der Altersklasse zwischen 20 und 70 Jahren konstant ist, erfährt jedoch auch in Wachstumsphasen nur geringe Änderungen (136, 137).

Tab. 2

Die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Kindern verschiedener Altersstufen (nach l. c. (132), (134))

Altersstufe [Jahre]	Hydroxyprolin im Harn [mg/24 Stdn.]
5–6	70
8–11	160
15	380
16	130
17–19	70–90

Die unterschiedlichen Durchschnittsgrößen von Mann und Frau erklären die von einigen Autoren festgestellten Differenzen in der Hydroxyprolin-Ausscheidung bei den beiden Geschlechtern. So beträgt nach BENOTT (138) der Normalwert der Hydroxyprolin-Ausscheidung pro 24 Stdn. beim Mann $38,3 \pm 11,9$ mg und bei der Frau $27,0 \pm 9,2$ mg; nach ALLISON (136) ist der Unterschied mit $37,6 \pm 3,2$ mg beim Mann und $32,1 \pm 4,6$ mg bei der Frau geringer. Hormonale Einflüsse scheinen hierfür von geringerer Bedeutung, da auch im Senium die Unterschiede etwa gleich bleiben. Wie schon dargelegt, läßt sich der Index Hydroxyprolin im Harn/Körpergröße beim Erwachsenen als Maß für die Unterernährung verwenden (139).

Die Bestimmung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn Neugeborener (Bezugswert: Kreatinin im Harn) ergab Unterschiede in Abhängigkeit davon, ob es sich bei einem unterentwickelten Neugeborenen um eine Frühgeburt (relativ hohes Hydroxyprolin) oder um eine Wachstumsverzögerung (relativ niedriges Hydroxyprolin) handelt (140). Große Bedeutung kommt diesen Befunden jedoch nicht zu, da die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn des Neugeborenen keine direkte Beziehung zum Kollagenstoffwechsel erkennen läßt, sondern von zahlreichen anderen, durch die Geburt bedingten Faktoren abhängt (141).

Rassisch unterschiedliche Körpergrößen erklären rassisch bedingte Differenzen der Hydroxyprolin-Werte im Harn. Zum Beispiel fand sich eine höhere Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn amerikanischer Kinder verschiedener Altersstufen als im Harn gleichaltriger japanischer Kinder (142).

Für praktische Belange zur Beurteilung von Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn von Erwachsenen darf angenommen werden, daß die Werte zwischen dem 20. und 70. Lebensjahr konstant sind; auch in höherem Alter (Beginn der senilen Osteoporose) treten keine signifikanten Änderungen auf (143, 144). Die Unterschiede in der Hydroxyprolin-Ausscheidung bei Mann und Frau werden meist vernachlässigt, was für die Feststellung bzw. Beurteilung pathologischer Werte, die meist ein Vielfaches des Normalwertes betragen, durchaus statthaft scheint. In Abhängigkeit von der verwendeten Methode werden von einzelnen Autoren ganz unterschiedliche Normalwerte angegeben. In Tabelle 4 sind die Normalwerte der Hydroxyprolin-Ausscheidung im 24-Stdn.-Harn des Erwachsenen nach den Ergebnissen von 25 verschiedenen Untersuchern zusammengestellt. Man erkennt aus dieser Tabelle die breiten Schwankungen der Normalwerte (zwischen 20 und 40 mg nach 18 Autoren!). Aus diesem Grund sollte in jedem Laboratorium bei Untersuchungsreihen über Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn unter pathologischen Bedingungen ein repräsentatives Kollektiv von Normalpersonen mituntersucht werden.

Am dritten Tag unter Hydroxyprolin-freier Diät wird der 24-Stdn.-Harn gesammelt und in einer Probe davon die Hydroxyprolin-Menge bestimmt; die Ergebnisse

Tab. 3

Die Normalwerte der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn des Erwachsenen nach den Angaben verschiedener Untersucher

Hydroxyprolin im Harn [mg/24 Stdn.]	Autor
< 20	ZIFF 1956 (223), GOIDANICH 1965 (133), KIVIRIKKO 1965 (209), EMMRICH 1967 (246)
20—25	DULL 1962 (158), CRABBE 1965 (126), DITZEL 1968 (192), CHIERIAN 1969 (236), HAURY 1972 (255)
25—30	KLEIN 1962 (228), SJOERDSMA 1965 (1), PROCKOP 1961 (117), HARTMANN 1966 (225), MÜHLBACH 1966 (163), HOSLEY 1966 (188), SALEH 1968 (143), CERDA 1970 (147)
30—35	JASIN 1962 (135), BENOIT 1963 (138), ALLISON 1966 (136)
35—40	ANSON 1966 (134), RAAB 1967 (146), BRUNISH 1965 (235)
40—45	MEILMAN 1963 (6), SMITH 1968 (180)
> 45	RAY-JONES 1964 (132)

werden immer auf die Gesamtausscheidung in 24 Stdn. bezogen. Deshalb ist für praktisch klinisch-chemische Belange die Tatsache des circadianen Rhythmus der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn nur von untergeordneter Bedeutung. Die höchste Hydroxyprolin-Ausscheidung liegt zwischen Mitternacht und 8 Uhr morgens vor, die niedrigsten Werte finden sich zwischen Mittag und 20 Uhr (145). Da die Kreatininwerte im Harn während des Tages höher sind als während der Nacht, ergeben sich zu verschiedenen Tageszeiten außerordentlich starke Schwankungen im Hydroxyprolin/Kreatinin-Index.

Pathologie der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn

Skeletterkrankungen

Von größtem Wert erwiesen sich Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn zur Beurteilung der Schwere von Skelettveränderungen und zur Verlaufskontrolle bei Knochenkrankheiten (Nachweis therapeutischer Effekte) (146). Bestimmungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum lassen sich bei Vorliegen bestimmter anderer Erkrankungen (z. B. Leberkrankheiten) für Fragen der Osteologie nicht verwerten und sind auch bei vorwiegend osteoklastischen Prozessen von weit geringerer Bedeutung (147). Der Gastroenterologe schließt durch Untersuchung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn das Skelettsystem als Ursache einer erhöhten Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum aus (148).

Alle generalisierten Knochenerkrankungen verändern die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; eine nachweisbare Steigerung erfolgt entweder durch eine verstärkte Neubildung von Knochenkollagen (z. B. bei *Osteodystrophia deformans* PAGER) oder durch einen pathologisch gesteigerten Abbau von organischer Knochensubstanz (z. B. bei osteoklastischen Knochenmetastasen) (149—152). Bei lokalisierten Knochenkrankheiten ist von der Intensität des Prozesses abhängig, ob eine signifikante Änderung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn eintritt.

Von den angeborenen, bzw. erblich bedingten Knochenkrankungen, die die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn signifikant verändern, ist als erstes das *MARFAN-Syndrom* zu erwähnen; bei dieser Kollagenstoffwechselstörung, die durch Kyphose, Skoliose, Trichterbrust, Arachnodaktylie, Störung der Oberkieferbildung, Zahnanomalien, Linsenstörungen und Intelligenzdefekte charakterisiert ist, fanden alle Untersucher hohe Hydroxyprolin-Werte im Harn (5, 117, 153, 154). Das Ausmaß der Steigerung läßt sich mit der Schwere der Störung korrelieren. — Bei *Osteogenesis imperfecta*, einer mesenchymalen Hypoplasie (angeborene Osteopsathyrose) mit Frakturneigung, Otoklerose, überstreckbaren Gelenken und blauen Skleren, finden sich sowohl Angaben über eine Verminderung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (155) als auch über eine Erhöhung der Werte (156, 157). Dieser Widerspruch erklärt sich aus den verschiedenen klinischen Zustandsbildern; die Erkrankung als solche dürfte zu einer Verminderung der Hydroxyprolin-Ausscheidung führen; liegen aber Frakturen vor, so kommt es zu einer Erhöhung des Hydroxyprolin im Harn (vgl. unten).

Eine große Zahl von Untersuchern konnte übereinstimmend eine Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei *Osteodystrophia deformans* PAGET feststellen (158–168). Vergleichende klinische, morphologische (Knochenbiopsie) und biochemische Untersuchungen ergaben, daß zwischen der Ausdehnung des pathologischen Prozesses (monostisch, polyostisch), der Aktivitätserhöhung der alkalischen Phosphatase im Serum und der Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung eine gute Korrelation besteht (167). Bei monostischem PAGET hängt das Ausmaß der Veränderungen von der Intensität des Knochenprozesses ab; hier findet sich die Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn als Folge der vermehrten Bildung von Knochenkollagen mitunter schon vor der Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum. Der Erfolg therapeutischer Maßnahmen bei *Osteodystrophia deformans* PAGET läßt sich ebenfalls an der Normalisierung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn beurteilen: unter einer Behandlung mit Natriumacetylsalicylat in einer Dosierung von 3–5 g pro Tag über 2 bis 12 Monate (169) sowie unter der Verabreichung von Calcitonin (168) fand sich eine Verringerung der Hydroxyprolinurie. Die *Osteodystrophia deformans* PAGET gehört zu denjenigen Knochenkrankungen, bei denen die höchsten Werte der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn gemessen wurden; so fand sich im eigenen Krankengut ein Patient mit einem polyostischen PAGET, der eine Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung auf das 25fache des Normalwertes zeigte.

Uneinheitlich waren die Untersuchungsergebnisse bei *Involutionsosteoporose* (senile Osteoporose; idiopathische Osteoporose), deren Entstehung mit einem vermehrten Abbau von Knochenmatrix bei unvermindertem Aufbau erklärt wird. Einige Autoren fanden Erhöhungen des Gesamt-Hydroxyprolin im Harn (170, 171) oder

nur des freien Hydroxyprolin (172, 173), andere konnten keine signifikanten Unterschiede gegenüber den Normalwerten feststellen (144, 150, 174). Im eigenen Krankengut (150) waren keine Unterschiede feststellbar, obwohl in Einzelfällen abnorm erhöhte Werte gemessen wurden, was jedoch auf andere Ursachen zurückzuführen war als auf die vorliegende Involutionsosteoporose. Hingegen führt eine symptomatische Osteoporose, wie sie z. B. nach längerdauernder Glukocorticoidbehandlung auftritt, zu einer deutlichen Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (152).

Patienten mit *Osteomalazie* (reduzierte Knochenbildung bei erhöhter zellulärer Aktivität und Osteoidbildung) zeigen durchwegs eine erhöhte Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn, wobei in Abhängigkeit von den verschiedensten Faktoren die Erhöhungen unterschiedlich stark sind (175–177). Die Verabreichung von Calcitonin führt bei den Osteomalazie-Patienten zur Resorption von Osteoid und damit zu einer weiteren Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; bei normalen Versuchspersonen beeinflusst Calcitonin die Hydroxyprolin-Ausscheidung nicht (176, 178 bis 180).

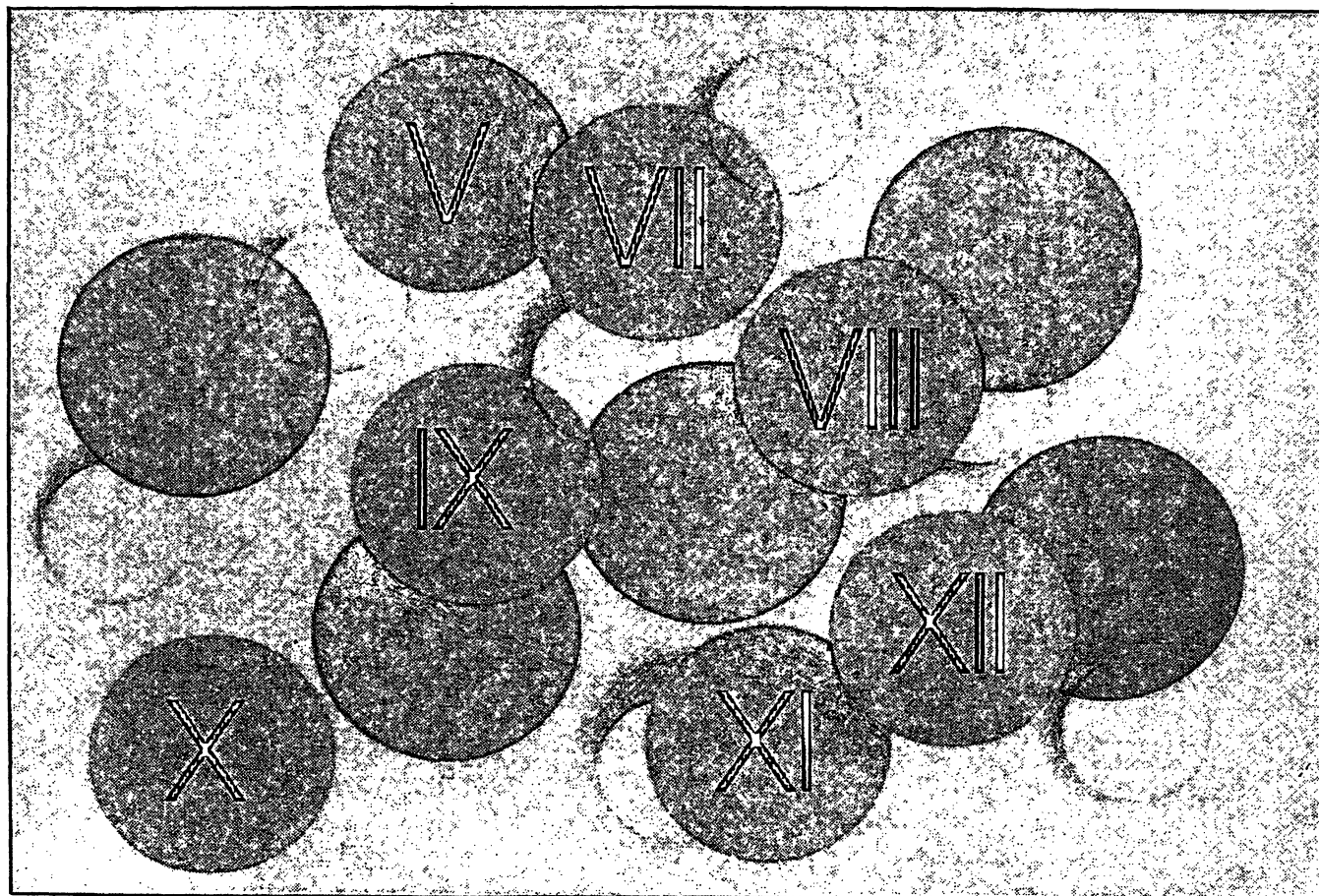
Nach *Knochenbrüchen* läßt sich regelmäßig eine Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn feststellen (181–184); es findet sich allerdings im Schrifttum auch eine Mitteilung, wonach dieser Anstieg vermißt wurde (185). Untersuchungen an größeren Kollektiven ergaben, daß die Häufigkeit an Patienten mit Knochenfrakturen, bei denen im Harn eine Zunahme des freien Hydroxyprolins auftritt, bei 90% liegt; eine signifikante Erhöhung des Gesamthydroxyprolin im Harn fand sich bei 70% (183). Für den Anstieg der Harn-Hydroxyprolin-Werte nach Knochenbrüchen sind mehrere Mechanismen verantwortlich: anfangs erfolgt eine Knochenresorption, später tritt dann eine Knochenneubildung ein (Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum) und schließlich liegt über den gesamten Zeitraum der Heilung von Knochenfrakturen eine Inaktivität der betreffenden Skelettanteile vor, was Anlaß zur *Inaktivitätsosteoporose* gibt. — Bei *Rachitis* und bei Calcitonin-resistenter Rachitis geht die Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn mit dem Anstieg der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum parallel (185a).

Von großer Bedeutung erwiesen sich Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Patienten mit *Knochentuberkulose* (186). Die Untersuchungen an 50 Patienten erlauben derartige Bestimmungen für die Verlaufskontrolle besonders zu empfehlen. Bei rascher Normalisierung der Senkung (oder bei Hochbleiben der Senkung als Folge einer Zweiterkrankung) sollten die üblichen röntgenologischen Kontrollen unbedingt noch durch eine Bestimmung der Hydroxyprolin-Ausscheidung ergänzt, bzw. bestätigt werden. Bei negativem Röntgenbefund und normaler Hydroxyprolinurie kann dann mit der Mobilisierung begonnen werden. Hier hilft die Hydroxyprolin-Bestimmung im Harn mit,

Für Ihr Gerinnungslabor

Platelin® Plus Activator

Plättchenfaktor-Reagenz
mit Celit zur Durchführung
der aktivierten PTT



Faktoren-Mangelplasmen

Reagenzien zur quantitativen
Bestimmung der Gerinnungs-
faktoren (V)(VII)(VIII)(IX)(X)(XI)(XII)

neu

LABORDIAGNOSTICA
GÖDECKE

Gödecke Aktiengesellschaft · Berlin
Werk Freiburg
78 Freiburg · Postfach 569

218/0



Walter de Gruyter Berlin · New York

**W. Pschyrembel —
J. W. Dudenhausen**
**Grundriß der
Perinatalmedizin**

Mit 140 Abbildungen und Tabellen.
Oktav. IV, 336 Seiten. 1972.
Plastik flexibel DM 38,—
ISBN 3 11 003694 0

W. Pschyrembel
Praktische Gynäkologie

Für Studierende und Ärzte. Mit 503,
teils mehrfarbigen Abbildungen.
4., überarbeitete und erweiterte Auflage.
Oktav. XXIV, 642 Seiten. 1968.
Gebunden DM 54,—
ISBN 3 11 000806 8

W. Pschyrembel
Praktische Geburtshilfe

Für Studierende und Ärzte. 12. und
13. Auflage. Oktav. Mit 502, davon
3 mehrfarbigen Abbildungen. XXIV,
807 Seiten. 1967. Gebunden DM 65,—
ISBN 3 11 000599 9

H.-W. Boschann
**Gynäkologische
Zytodiagnostik
für Klinik und Praxis**

2., völlig überarbeitete Auflage der
„Praktischen Zytologie“. Groß-Oktav.
Etwa 180 Seiten. Mit 28 Abbildungen,
davon 18 farbig, 110 Strichzeichnungen.
1972. Gebunden etwa DM 50,—
ISBN 3 11 003981 8

**Helmut Witt —
Herta Bürger**

**Mammadiagnostik
im Röntgenbild**

Ein Atlas für die Praxis mit histolo-
gischen Schnitten. Unter Mitarbeit von
Friedrich Stein. Mit 239 Abbildungen.
Quart. VIII, 148 Seiten. 1968.
Ganzleinen DM 118,—
ISBN 3 11 000818 1

**Eduard Gitsch —
Adolf Hans Palmrich**
**Gynäkologisch-
operative Anatomie**

Einfache und erweiterte Hysterektomie.
Ein Atlas. Mit Geleitworten von
J. Amreich und H. Husslein.
Bildteil von Hans Lang
Anhang: Die Radioisotopen-Radikal-
operation. Quart. XII, 160 Seiten.
Mit 200, zum Teil mehrfarbigen Ab-
bildungen. 1972.
Gebunden DM 160,— ISBN 3 11 003480 8

Ulrich Schneeweiß

**Allgemeine
Mikrobiologie**

Leitsätze für Studierende und Ärzte.
Unter Mitarbeit von E.-M. Fabricius.
Mit 111 Abbildungen, 46 Tabellen.
Groß-Oktav. XII, 343 Seiten. 1968.
Plastik flexibel DM 26,—
ISBN 3 11 000810 6

Ulrich Schneeweiß
Spezielle Mikrobiologie

Leitsätze für Studierende und Ärzte.
Unter Mitarbeit von E.-M. Fabricius.
Mit 158 Abbildungen, 39 Tabellen.
Groß-Oktav. XII, 477 Seiten. 1968.
Plastik flexibel DM 36,—
ISBN 3 11 000811 4

eine zu frühe Mobilisierung des Patienten mit ihren zum Teil äußerst schwerwiegenden Folgen zu vermeiden.

Hämatologische Erkrankungen führen nur indirekt zur Veränderung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn durch reaktive Knochenneubildung oder durch Osteoklasie. In eigenen Untersuchungen (gemeinsam mit H. CZITTOBER, unveröffentlicht) ließen sich bei Patienten mit chronischen Myelosen, Paraproteinämien u. a. in Abhängigkeit von der Knochenmitbeteiligung Steigerungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn nachweisen. Außerordentlich starke Erhöhungen fanden sich bei Myelomen mit ausgeprägter reaktiver Knochenneubildung, was sich auch durch die Aktivitätserhöhung der alkalischen Phosphatase im Serum nachweisen ließ. Die Behandlung von Myelompatienten mit Zytostatika bewirkte ein Absinken der gesteigerten Hydroxyprolinurie (150); hierin scheint eine Möglichkeit zur Kontrolle des Behandlungserfolges zu liegen.

Metastatische Absiedelung von Carcinomen in Skelettanteile führen regelmäßig zur Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; osteoblastische Metastasen (gleichzeitige Aktivitätserhöhung der alkalischen Phosphatase im Serum) verursachen meist eine ausgiebigere Hydroxyprolinurie als osteoklastische Metastasen (187–193). Auch primäre maligne Knochentumoren sind von einer gesteigerten Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn begleitet. Die therapeutische Anwendung von Zytostatika oder Glukocorticoiden verringert die gesteigerte Hydroxyprolinurie bei Patienten mit Knochenmetastasen; allerdings läßt sich klinisch eine signifikante Besserung des Zustandes (Schmerzverringerung, Tumorregression, Normalisierung der Calciumwerte) erst dann feststellen, wenn die Hydroxyprolin-Werte im Harn auf 60% des Ausgangswertes abgesunken sind (189, 193). Demnach läßt sich also auch das Ansprechen von Knochenmetastasen auf therapeutische Maßnahmen durch Verfolgung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn beurteilen.

Wie schon an anderer Stelle kurz angeführt, können symptomatische Osteoporosen, wie sie als Begleitsymptome anderer Erkrankungen wie z. B. eines Erythematodes, eines Morbus BECHTEREW oder einer chronischen Polyarthritiden auftreten, zu einer Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn führen (150, 152). Hier kann leicht der Eindruck entstehen, daß die Grundkrankheit Ursache für die Veränderung im Hydroxyprolin-Stoffwechsel ist. — An symptomatische Osteoporosen als unerwünschte Arzneimittelwirkungen ist besonders bei langdauernder Glukocorticoidmedikation zu denken.

Zum Abschluß der Besprechung von Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Skeletterkrankungen sei darauf verwiesen, daß bei gegenseitiger Beeinflussung des Hydroxyprolin-Pools (zum Beispiel verminderte Kollagensynthese bei gesteigerter Kollagenolyse) die Hydroxyprolinurie trotz schwerer Kollagenstörungen gleich bleiben kann. Theoretisch kann also der Fall eintreten, daß ein Patient mit schweren

Knochenstörungen normale Hydroxyprolin-Werte im Harn aufweist. Da eine in beiden Richtungen gleichstarke, gegensinnige Beeinflussung des Hydroxyprolin-Pools außerordentlich unwahrscheinlich ist, erlaubt nach der allgemeinen Ansicht in der Literatur das Vorliegen einer normalen Hydroxyprolinurie den Ausschluß schwerer Skelettveränderungen.

Endokrine Störungen und exogene Hormonverabreichung

Zahlreiche Hormone nehmen Einfluß auf den Kollagenstoffwechsel und führen zu Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn. Bereits die Auslösung eines Stress (Adrenalinausschüttung) bedingt eine kurzfristig gesteigerte Hydroxyprolinurie (194). Glukocorticoide führen über eine Bremsung des Kollagenstoffwechsels zu einer Abnahme der im Harn ausgeschiedenen Menge an Hydroxyprolin (195), allerdings nur bei Verabreichung in niedriger Dosierung (vgl. S. 197).

Parathormon bewirkt über eine Stimulierung der Osteocyten eine Resorption von Knochengewebe (anorganische und organische Substanz) und hemmt die Kollagensynthese. Vom erstgenannten Effekt wäre eine Steigerung der Hydroxyprolinurie zu erwarten (Kollagenolyse), der letztgenannte Effekt müßte über die Verringerung löslicher Kollagenvorstufen zur Synthese die Hydroxyprolin-Werte im Harn erniedrigen. Die klinisch-chemischen Untersuchungen einer großen Zahl von Autoren ergaben, daß der Effekt der Knochenresorption bei weitem überwiegt; Patienten mit Hyperparathyreoidismus zeigen durchwegs eine abnorm gesteigerte Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (138, 196–202). Die Verabreichung von Parathormon führt auch bei normalen Versuchspersonen zum Anstieg der Hydroxyprolinurie (138, 197); dieser Befund konnte nur von einem Autor nicht bestätigt werden (203). Von großer klinischer Bedeutung ist die wiederholt gemachte Beobachtung, daß der Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung beim Hyperparathyreoidismus oftmals zu einem Zeitpunkt erfolgt, zu dem die röntgenologischen Zeichen der Knochenresorption noch fehlen. Bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus ist besonders darauf zu achten, ob die Nierenfunktion intakt ist, bevor man Hydroxyprolin-Bestimmungen im Harn durchführt. Nach Entfernung eines Nebenschilddrüsenadenoms kommt es nach einiger Zeit zur Normalisierung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (202, 204, 205). Gleichzeitig steigt die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum an, als Zeichen der Restitution von Knochengewebe. Calciuminfusionen beeinflussen die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn durch Depression der Nebenschilddrüsen (206, 207). In vergleichenden Untersuchungen (202) erwies sich die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum als weit weniger verläßlich zur Feststellung einer Skelettmitbeteiligung beim Hyperparathyreoidismus als die Messung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; die Ergebnisse ließen sich aus-

gezeichnet zum morphologischen Bild (Knochenbiopsie) in Beziehung setzen. Hydroxyprolin-Bestimmungen im Harn sind aber weit weniger aufwendig als Knochenbiopsien und auch beliebig oft wiederholbar (Verlaufskontrolle).

Störungen der *Schilddrüsenfunktion* verändern die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn. Beim Hyperthyreoidismus steigen die Werte an (z. B. auf das 3,3fache des Normalwertes), beim Myxödem sinken sie ab (z. B. auf 50% der Norm). Trijodthyronin führt zur Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn gesunder Versuchspersonen (1, 208–212). Der diagnostische Wert ergibt sich aus der Tatsache, daß in einer großen Serie von Patienten 117 von 125 Hyperthyreotikern und 22 von 23 Myxödempatienten pathologische Hydroxyprolin-Werte im Harn erkennen ließen (212). Bei hypothyreotem Zwergwuchs führt die Verabreichung von Schilddrüsenhormonen zu einem Anstieg der Hydroxyprolinurie bei gleichzeitigem Einsetzen eines Wachstumsschubes (1).

Auch das *Wachstumshormon* der Hypophyse beeinflusst den Kollagenstoffwechsel der Knochen und die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn. Bei hypophysärem Zwergwuchs liegen außerordentlich niedrige Werte vor (213), nach Verabreichung von Wachstumshormon steigt die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn rasch an, was hinsichtlich des therapeutischen Ansprechens als prognostisch außerordentlich wichtiger Befund herausgestellt wurde (211, 214). Auch beim *Glukocorticoid*-bedingten Zwergwuchs liegen abnorm niedrige Hydroxyprolin-Werte im Harn vor, nach Verabreichung von somatotropem Hormon erfolgt eine Normalisierung (215, 216). Patienten mit endogener Überproduktion an somatotropem Hormon weisen eine Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn auf (138). Die intravenöse Infusion von 50 I. U. adrenocorticotropen Hormons bewirkt über somatotrope Effekte einen kurzfristigen Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (217); über eine Bremsung der Kollagensynthese kann aber adrenocorticotropes Hormon auch zu einer kurzdauernden Erniedrigung der Hydroxyprolin-Werte im Harn führen (218).

Östrogene Hormone beeinflussen die Kollagenreifung und Kollagensynthese (219) und bewirken deshalb Änderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn. Je nach der gewählten Dosierung und nach den Versuchsbedingungen lassen sich anabole oder katabole Effekte nachweisen (220, 221). Bei normalen Versuchspersonen bedingen östrogene Hormone eine Erniedrigung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; diese Erniedrigung erfolgt auch bei pathologisch gesteigerter Hydroxyprolinurie wie zum Beispiel im Rahmen einer Osteodystrophia deformans PAGET, bei Vorliegen von Knochenmetastasen oder beim Hyperparathyreoidismus (222).

Aus dem Voranstehenden läßt sich die Schlußfolgerung ziehen, daß Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei verschiedenen hormonalen Dysregulationen, die den Kollagenstoffwechsel des

Knochens betreffen, in diagnostischer und prognostischer Hinsicht wertvolle klinisch-chemische Hilfsmittel darstellen. Darüber hinaus erlauben derartige Bestimmungen in einfacher Weise das therapeutische Ansprechen derartiger hormonaler Störungen zu beurteilen und Verlaufskontrollen durchzuführen.

Rheumatische Erkrankungen

Eher enttäuschend gestalteten sich die Ergebnisse der Anwendung von Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Von der Vorstellung ausgehend, daß alle Erkrankungen des Bindegewebes zu Veränderungen des Hydroxyprolin-Pools führen, wurde von verschiedenen Autoren bei Patienten mit Gelenkrheumatismus die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bestimmt; meist lagen jedoch unveränderte Werte vor (223, 224), was dahingehend zu interpretieren ist, daß die zweifellos eintretenden Störungen im Hydroxyprolin-Pool unterhalb der Nachweisgrenze der Methode (starke Streuungen, physiologische Schwankungen usw.) liegen. Erhöhte Hydroxyprolin-Werte im Harn fanden sich nur in Fällen mit besonders starken Entzündungszeichen (225), wobei die Intensität und die Ausdehnung des entzündlichen Prozesses zum Ausmaß der Hydroxyprolinurie in Beziehung gesetzt werden konnten. Die Verabreichung „antirheumatischer“ Medikamente führte zur Normalisierung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (225, 226, 227).

Im eigenen Krankengut fanden sich bei Patienten mit verschiedensten Formen des Gelenkrheumatismus selbst bei Vorliegen starker Entzündungszeichen keine signifikanten Veränderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn.

Auf die Möglichkeit der gesteigerten Hydroxyprolinurie im Rahmen einer symptomatischen Osteoporose im Gefolge eines Gelenkrheumatismus oder als unerwünschter Glukocorticoid-effekt im Rahmen einer antirheumatischen Behandlung wurde schon auf S. 200 hingewiesen.

Verbrennungen

Nach schweren Verbrennungen kommt es regelmäßig zu einem Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (228, 229); vereinzelt wurden Erhöhungen bis auf das 20fache des Normalwertes gemessen (230). Das Ausmaß der gesteigerten Hydroxyprolinurie läßt sich jedoch mit dem Schweregrad der Verbrennung nicht korrelieren, da verschiedene Faktoren wie Resorption oder Abstoßung der Degradationsprodukte, Zerstörung der Blutgefäße u. a. interferieren (231).

Bei Verbrennungen nimmt sowohl das freie Hydroxyprolin als auch das peptidgebundene Hydroxyprolin im Harn zu (232). Es ist kaum anzunehmen, daß das im Harn erscheinende Hydroxyprolin nur vom Abbau hitzedenaturierten Kollagens stammt; aufgrund des zeitlichen Verlaufes der gesteigerten Hydroxyprolin-Ausscheidung ist auch ein Zusammenhang mit den reparativen Prozessen vorhanden (233).

Hauterkrankungen

Im Gegensatz zum Knochenkollagen zeigt das Kollagen der Haut nur einen äußerst trägen Stoffwechsel (Fehlen des ständigen Auf- und Abbaus wie im Knochen) und nimmt deshalb nur geringen Einfluß auf den Hydroxyprolin-Pool. Hauterkrankungen im engeren Sinn bleiben ohne Einfluß auf die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (234). Nur bei *Psoriasis arthropathica* konnte bei manchen Patienten eine gesteigerte Hydroxyprolinurie nachgewiesen werden (235).

Vereinzelt wurde bei chronischen granulomatösen Erkrankungen wie zum Beispiel bei *Leprosy lepromatosa* (236) eine Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn beobachtet; diese dürfte auf eine allgemeine Anregung der Kollagenbildung zurückzuführen sein. Auch bei Patienten mit *Sarkoidose* wurden vereinzelt erhöhte Hydroxyprolin-Werte im Harn gemessen, besonders in den ersten Stadien oder bei der Lösung von Lungeninfiltraten (237, 238). Eine diagnostische oder prognostische Bedeutung kommt den Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bei Sarkoidose jedoch nicht zu.

Bei *generalisierten Bindegewbserkrankungen* („Kollagenosen“) fanden sich vereinzelt Erhöhungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn, so zum Beispiel bei Sklerodermie oder Dermatomyositis (1, 5, 6, 239, 240, 243). Bei diesen Fällen dürfte eine Mitbeteiligung des Knochenkollagens vorliegen. In den wenigen untersuchten Fällen von systemischem Erythematodes und von Periarteriitis nodosa lag eine normale Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn vor (1).

Therapieversuche bei Sklerodermie mit einem lathyrogenen Stoff (β -Aminonitrilfumarat) verursachten eine Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (241); als Folge verschiedener Komplikationen mußten diese Therapieversuche bald wieder eingestellt werden. Einem Patienten mit schwerer progressiver systemischer Sklerose wurde Pankreaskollagenase verabreicht, was eine vielleicht auf eine Kollagenolyse in vivo zurückgehende Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn bewirkte (242).

Verschiedene andere Erkrankungen

Patienten mit Otosklerose weisen eine normale Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn auf (244); eine Steigerung wäre nur dann zu erwarten gewesen, wenn ein systemisches Grundleiden vorläge.

Kinder mit pseudohypertrophischer Muskeldystrophie zeigen eine verminderte Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn; bei Erwachsenen mit der gleichen Erkrankung ist die Hydroxyprolin-Ausscheidung unverändert (243, 245).

Bei Endangiitis¹ und Arteriosklerosis² obliterans ist die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn nicht verändert (246), wodurch eine signifikante Beeinflussung des Hydroxyprolin-Pools bei Erkrankungen des Gefäßbindegewebes ausgeschlossen werden konnte.

Schwangerschaft

Im Verlauf einer Schwangerschaft findet sich ein Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn als Folge der hormonalen Umstellungen und der Neubildung von Kollagen; post partum treten noch höhere Werte auf als Folge der Uterusinvolution (247). Nach beendeter Involution liegen wieder normale Werte vor.

Korrelation der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn mit anderen klinisch-chemischen Befunden

Da verschiedene Mechanismen den Hydroxyprolin-Pool unter Umständen gleichsinnig verändern können, ergeben sich Korrelationen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn mit ganz unterschiedlichen klinisch-chemischen Befunden.

Bei vorwiegend osteoblastischen Veränderungen ergeben sich bei vielen pathologischen Prozessen ausgezeichnete Korrelationen zwischen der Aktivität der *alkalischen Phosphatase* im Serum und dem Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn (248). Generell weist die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn engere Beziehungen zum pathologischen Geschehen bei vorwiegend osteoblastischen Veränderungen auf als bei vorwiegend osteoklastischen Prozessen; dies erklärt die häufigere Korrelation mit einer Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum (171, 249–251).

Beim Gesunden läßt sich die im Harn ausgeschiedene Menge an Hydroxyprolin mit der im Harn ausgeschiedenen Menge an *Calcium* in eine positive Relation setzen (252). Diese Beziehung bleibt auch beim Vorliegen vorwiegend osteoklastischer Prozesse bestehen; eine Korrelation zwischen Hydroxyprolin und Phosphaten im Harn konnte nicht nachgewiesen werden (253, 254). Vgl. l. c. (256).

Der Aussagewert klinisch-chemischer Befunde bei Knochenprozessen ist zweifellos der Aussagekraft der morphologischen Knochenuntersuchung unterlegen. Es sei deshalb an dieser Stelle nochmals darauf verwiesen, daß bei der Osteodystrophia deformans *PAGE* und beim Hyperparathyreoidismus sehr gute Übereinstimmungen zwischen dem Anstieg der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn und den morphologisch erkennbaren Änderungen des Knochenaufbaus gefunden wurden (167, 202).

Schlußfolgerungen

Wenn die Hydroxyprolin-Ausscheidung im 24-Stdn.-Harn von der physiologischen Norm abweicht, darf dies als ein Zeichen der Veränderung im Hydroxyprolin-Pool gewertet werden, vorausgesetzt, daß kein Hydroxyprolin mit der Nahrung zugeführt wird und daß die Nierenfunktion intakt ist. Welcher Art die praktisch immer durch den Knochenkollagenstoffwechsel bedingte Veränderung im Hydroxyprolin-Pool ist, kann nicht nur allein aufgrund der beobachteten Steigerung oder Verminderung des Harn-Hydroxyprolin ausgesagt werden. Meist läßt sich jedoch die

Art der vorliegenden Veränderung im Kollagenstoffwechsel (des Knochens) durch entsprechende klinische, klinisch-chemische, röntgenologische oder morphologische Untersuchungen genau bestimmen.

Trotz der beträchtlichen Schwierigkeiten und des technischen Aufwandes der Hydroxyprolin-Bestimmungen im Harn wurde diese Methode in den letzten 10 Jahren in zunehmendem Maße eingesetzt. Die Ergebnisse der Tierversuche fanden sich auch in den klinischen Untersuchungen bestätigt. Bei zahlreichen Skelettveränderungen erwiesen sich Bestimmungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn als wichtige diagnostische Hilfsmittel; ferner ließen sich derartige Bestimmungen ausgezeichnet zur Verlaufskontrolle verschiedener Knochenerkrankungen einsetzen und ermöglichten die Beurteilung therapeutischer Erfolge. Auch eine große Zahl endokriner Störungen, die zu Veränderungen im Skelettsystem führen, bewirkt diagnostisch verwertbare Änderungen der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn.

Conclusions

A deviation of the hydroxyproline values in urine from normal physiological levels indicates changes in the

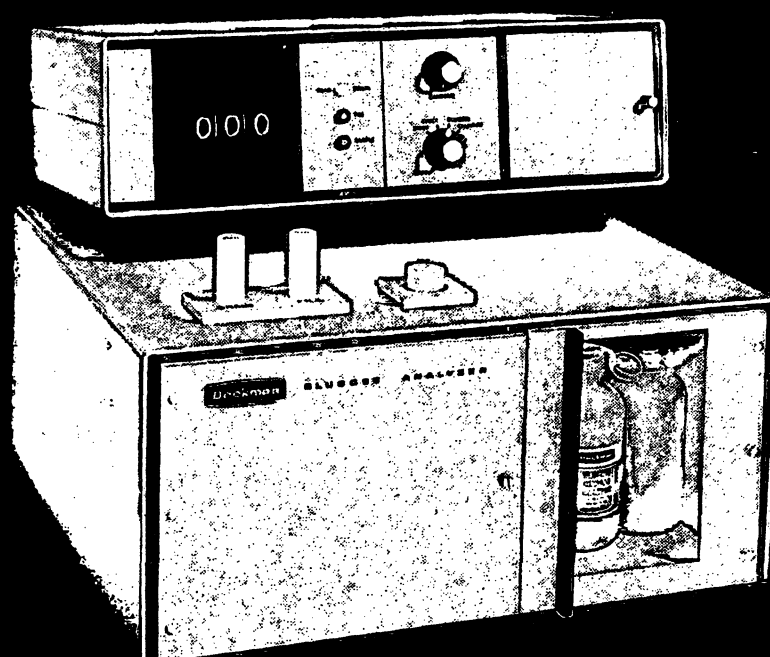
hydroxyproline pool. This conclusion, however, is only permitted when hydroxyproline is eliminated from the diet for at least three days and when kidney function is unimpaired. Changes in the hydroxyproline pool are nearly always the result of lesions in the metabolism of bone collagen, but an increased or decreased urinary excretion of hydroxyproline gives no indication of the type of lesion involved. Further clinical, clinical-chemical, radiological, or morphological investigations are needed for an exact evaluation.

Although the determination of urinary hydroxyproline is subject to numerous technical (and sometimes practical) difficulties, this method has been increasingly used over the last 10 years. The data collected in animal experiments have been confirmed in the clinical studies. In numerous bone diseases, determinations of urinary hydroxyproline levels have proved to be a valuable diagnostic aid. Furthermore, such determinations could be successfully used for long-term controls and for the evaluation of therapeutic response. In a large number of endocrine diseases in which skeletal changes are encountered, the estimation of urinary hydroxyproline has proved valuable for diagnosis, prognosis and long-term control.

Literatur

1. SJOERDSMA, A., S. UDENFRIEND, H. KEISER und E. C. LE ROY, *Ann. int. Med.* 63, 672 (1965). — 2. DULL, T. A. und P. H. HENNEMAN, *N. Engl. J. Med.* 268, 132 (1963). — 3. PROCKOP, D. J., *J. clin. Invest.* 43, 453 (1964). — 4. MECHANIC, G., S. J. SKUPP, L. B. SAFIER und A. C. KIBRICK, *Arch. Biochem. Biophysics* 86, 71 (1960). — 5. MEILMAN, E. und M. URIVETZKY, *Arthr. Rheum.* 4, 119 (1961). — 6. MEILMAN, E., M. U. URIVETZKY und C. M. RAPOPORT, *J. clin. Invest.* 42, 40 (1963). — 7. WEISS, J. B. und F. S. STEVEN, *Nature, London* 217, 661 (1968). — 8. HANSON, H. und B. WIEDERANDERS, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 25, 255 (1969). — 9. CHERIAN, M. G. und A. N. RADHAKRISHNAN, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 101, 241 (1965). — 10. OYE, I., *Scand. J. Clin. Laborat. Invest.* 14, 259 (1962). — 11. KEISER, H., E. C. LE ROY, S. UDENFRIEND und A. SJOERDSMA, *Science* 142, 1678 (1963). — 12. KIBRICK, A. C., J. OVERMANN und G. KITAGAWA, *Clin. Chem., New York* 10, 656 (1964). — 13. LE ROY, E. C., A. KAPLAN, S. UDENFRIEND und A. SJOERDSMA, *J. biol. Chemistry* 239, 3350 (1964). — 14. ARNOLD, E., E. HVIDBERG und S. RASMUSSEN, *Scand. J. Clin. Laborat. Invest.* 24, 231 (1969). — 15. EASTOE, J. E. und B. EASTOE, *Biochem. J.* 57, 453 (1954). — 16. STEIN, W. H. und E. G. MILLER, *J. biol. Chemistry* 125, 599 (1938). — 17. BUDDECKE, E., *Angew. Chemie* 72, 663 (1960). — 18. PIEZ, K. A. und R. C. LIKINS, *Calcification in biological systems. Am. Ass. Adv. Sci. Washington*, 1960. — 19. KLEIN, LE ROY und TH. M. TERE, *N. Engl. J. Med.* 273, 771 (1965). — 20. BENTLEY, J. P. und A. N. HANSON, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 175, 339 (1969). — 21. MILLER, E. J., J. K. VAN DER KORST und L. SOKOLOFF, *Arthr. Rheum.* 12, 21 (1969). — 22. WANGEN, R. M. und J. H. SKALA, *J. Food Sci.* 33, 613 (1968). — 23. HUTTON, J. J., A. KAPLAN und S. UDENFRIEND, *Arch. Biochem. Biophysics* 121, 384 (1967). — 24. PROCKOP, D. J., K. JUVA und J. ENGEL, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 348, 553 (1967). — 25. SCHWARTZ, P. L., R. E. WETTENHALL und J. BORNSTEIN, *J. exp. Zool.* 168, 517 (1968). — 26. BADE, M. L. und B. S. GOULD, *FEBS Letters* 2, 173 (1969). — 27. SUZUKI, F. und E. Koyama, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 177, 154 (1969). — 28. PROCKOPOVA, D. und B. STOJAN, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 136, 585 (1967). — 29. Uitto, J. und K. K. MUSTAKALLIO, *Biochem. Pharmacol.* 20, 2495 (1971). — 30. RAAB, W., *Arch. klin. exp. Dermat.* 234, 36 (1969). — 31. KIVIRIKKO, K. I., *Int. Rev. Connect. Tiss. Res.* 5, 93 (1970). — 32. WEISS, P. H. und L. KLEIN, *J. clin. Invest.* 48, 1 (1969). — 33. HADDAD, J. G., S. COURANZ und L. V. AVIOLI, *J. Clin. Endocr., Springfield* 30, 282 (1970). — 34. KRANE, S. N., A. J. MUNDOS und E. D. HARRIS, *J. clin. Invest.* 49, 716 (1970). — 35. SMILEY, J. D. und M. ZIFF, *Physiol. Rev.* 44, 30 (1964). — 36. HUECKEL, H. J. und Q. R. ROGERS, *Comp. Biochem. Physiol.* 32, 7 (1970). — 37. NEY, R. L., W. Y. W. AU, G. KELLY, I. RADDE und F. C. BARTTER, *J. clin. Invest.* 44, 2003 (1965). — 38. ANDERSON, M. D., V. C. SPEER, J. T. MCCALL und V. W. HAYS, *J. Animal Sci.* 25, 1123 (1966). — 39. BARNES, M. J., B. J. CONSTABLE und E. KODICEK, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 184, 358 (1969). — 40. LINDSTEDT, S. und D. J. PROCKOP, *J. biol. Chemistry* 236, 1399 (1961). — 41. BATES, W. K., J. MCGOWEN und R. V. TALMAGE, *Endocrinology* 71, 189 (1962). — 42. KLEIN, L. und P. H. CURTISS, *Fed. Proc.* 21, 206 (1962). — 43. BATES, W. K., J. AWAPARA und R. V. TALMAGE, *Proc. Soc. exper. Biol. Med., N. Y.* 115, 650 (1964). — 44. RASMUSSEN, H., C. ANAST und C. ARNAUD, *J. clin. Invest.* 46, 746 (1967). — 45. AER, J., *Endocrinology* 83, 379 (1968). — 46. KIVIRIKKO, K. I., M. KOIVUSALO, O. LAITINEN und M. LIESMAA, *Acta physiol. scand.* 57, 462 (1963). — 47. KIVIRIKKO, K. I., M. KOIVUSALO und O. LAITINEN, *Acta physiol. scand.* 61, 49 (1964). — 48. KIVIRIKKO, K. I. und O. LAITINEN, *Acta chem. scand.* 19, 1781 (1965). — 49. KIVIRIKKO, K. I., M. LIESMAA und T. LUUKAINEN, *Acta endocr., Copenhagen* 27, 118 (1958). — 50. KOWALEWSKI, K. und S. YONG, *Acta endocr., Copenhagen* 59, 53 (1968). — 51. KOWALEWSKI, K., *Acta endocr., Copenhagen* 50, 321 (1965). — 52. AER, J., J. HALME, K. KIVIRIKKO und O. LAITINEN, *Biochem. Pharmacol.* 17, 1173 (1968). — 53. RAAB, W., *Wien. klin. Wschr.* 79, 944 (1967). — 54. KIVIRIKKO, K. I. und M. LIESMAA, *Acta endocr., Copenhagen* 27, 441 (1958). — 55. KIVIRIKKO, K. I. und O. LAITINEN, *Acta physiol. scand.* 64, 356 (1965). — 56. SMITH, Q. T. und D. J. ALLISON, *Endocrinology* 77, 785 (1965). — 57. SMITH, Q. T., *Biochem. Pharmacol.* 16, 2171 (1967). — 58. FIRSCH, H. E. und N. W. ALCOCK, *Metabolism* 18, 115 (1969). — 59. MACMANUS, J. und F. W. HEATON, *Clin. Sci.* 36, 297 (1969). — 60. PARSONS, V. und M. SELF, *Nature, London* 217, 551 (1968). — 61. PAR-

**Alle reden von der Lösung Ihrer Probleme -
Wir haben sie . . .
. . . die ideale Lösung für Ihre Glukose-
und Harnsäureanalysen**



mit dem neuen **Beckman-Glukose-Analysator**

- ⊙ Spezifische Bestimmungen durch die Verwendung von Enzymen
- ⊙ Durch die Anwendung eines völlig neuen Meßprinzips keine Verfälschung durch reduzierende Substanzen
- ⊙ Rationell hinsichtlich Zeit und Kosten
- ⊙ Probenvolumen im Mikroliterbereich
- ⊙ 60 Analysen pro Stunde
- ⊙ Digitale Anzeige der Meßwerte in mg%
- ⊙ Analysengenauigkeit $\pm 2\%$
- ⊙ Linearität des Meßbereichs:
500 mg% Glukose, 10 mg% Harnsäure
- ⊙ Einfache Bedienung,
platzsparende Aufstellung

Fordern Sie bitte Unterlagen an oder lassen sich durch eine Demonstration von der Leistungsfähigkeit unseres Gerätes überzeugen.



BECKMAN INSTRUMENTS GMBH

8 München 45, Frankfurter Ring 115, Tel. 388 71, Telex 5-215761

Technische Büros: Berlin, Tel. 3 12 10 35; Hamburg, Tel. 51 95 54; Hannover, Tel. 66 39 92; Düsseldorf, Tel. 21 20 15; Frankfurt, Tel. (06103) 10 03; Stuttgart, Tel. 71 18 37; München, Tel. 88 50 35
Internationale Niederlassungen: Fullerton/USA, Genf, Paris, London, Glenrothes/Schottland, Tokio, Kapstadt, Wien, Amsterdam, Stockholm



Um von etwas anderem zu reden...

Wir nehmen an Charles River COBS® Ratten alle chirurgischen Veränderungen vor, die Ihren Laborzwecken entsprechen.

Wir führen Thyroidektomien, Hypophysektomien und vier weitere Endokrinektomien aus, auch Thymektomien an neugeborenen Rattenjungen. Wir können jede einzelne dieser verschiedenen chirurgischen Veränderungen, oder auch jede beliebige Kombination an jedem von Ihnen bestimmten Tier vornehmen.

Alle Mitglieder des chirurgischen Teams bei Charles River France sind Biologen, die die erforderlichen Eingriffe in schonenden Verfahren so umfassend und vollständig durchzuführen verstehen, daß die Tiere für Versuche optimal geeignet sind.

Wenn Sie chirurgisch veränderte Tiere benötigen, teilen Sie uns bitte Ihre entsprechenden Wünsche mit.

Was an Charles River Ratten zu machen ist, können Sie uns anvertrauen.

Charles River France 
76 Saint-Aubin-Lès-Elbeuf, France

- sons, V., C. DAVIES und M. JENKINS, *Biochim. biophysica Acta*, Amsterdam 192, 252 (1969). — 62. WIDDOWSON, E. M. und R. G. WHITEHEAD, *Nature*, London 212, 683 (1966). — 63. VERMOUSEK, I., Z. BRADA und J. TOBISKA, *Neoplasma* 14, 59 (1967). — 64. KOWALEWSKI, K. und S. YONG, *Acta endocr.*, Kopenhagen 56, 547 (1967). — 65. KOWALEWSKI, K. und F. HERON, *Acta endocr.*, Kopenhagen 64, 541 (1970). — 66. RAAB, W., *Arch. klin. exp. Dermat.* 226, 178 (1966). — 67. MARTIN, G. R., S. E. Mergen-HAGEN und D. J. PROCKOP, *Nature*, London 191, 1008 (1961). — 68. JASIN, H. E. und M. ZIFF, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, N. Y. 110, 837 (1962). — 69. KEISER, H. R., E. D. HARRIS und A. SJOERDSMA, *Clin. Pharmacol. Ther.* 8, 587 (1967). — 70. STALDER, K.-H. und H. STEGEMANN, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 348, 242 (1967). — 71. KEISER, H. R., R. I. HENKIN und M. KARE, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, N. Y. 129, 516 (1968). — 72. MATSUMURA, Y., Y. SHIBATA, T. TAMAKI und M. IGUCHI, *Metabolism* 16, 957 (1967). — 73. TRNAVSKÁ, Z., K. TRNAVSKÝ und K. KÜHN, *Biochem. Pharmacol.* 17, 1493 (1968). — 74. RAAB, W., *Experientia*, Basel 22, 695 (1966). — 75. KAISER, E. und W. RAAB, *Toxicon* 4, 251 (1967). — 76. RAAB, W., *Z. Immun-Forsch.* 133, 180 (1967). — 77. SANDBERG, N., *Nature*, London 194, 183 (1962). — 78. TROLL, W. und R. K. CANNAN, *J. biol. Chemistry* 200, 803 (1953). — 79. ROGERS, C. J., J. R. KIMMEL, M. E. HUTCHIN und H. A. HARPER, *J. biol. Chemistry* 206, 553 (1954). — 80. LANG, K., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 219, 148 (1933). — 81. WALDSCHMIDT-LEITZ, E. und S. AKABORI, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 224, 187 (1934). — 82. WISS, O., *Helv. chim. Acta* 32, 199 (1949). — 83. NEUMANN, R. E. und M. A. LOGAN, *J. biol. Chemistry* 184, 299 (1950). — 84. GRÜNBAUM, B. W. und D. GLICK, *Arch. Biochem. Biophysics* 65, 260 (1956). — 85. MIYADA, D. S. und A. L. TRAPPEL, *Analytic Chem.* 28, 909 (1956). — 86. MITOMA, C., T. E. SMITH, J. D. DAVIDSON, S. UDENFRIEND, F. DA COSTA und S. SJOERDSMA, *J. Laborat. Clin. Med.* 53, 970 (1959). — 87. BLOMFELD, J. und J. FARBER, *Analytic. Chem.* 36, 950 (1964). — 88. FELS, I. G., *Clin. Chem.*, New York 4, 62 (1958). — 89. HUTTERER, F. und E. J. SINGER, *Analytic. Chem.* 32, 556 (1960). — 90. FILLIAT, M., J. COTTE und M. BRUNET, *Pathol. Biol. Semaine Hôp.* 14, 762 (1966). — 91. BOREL, J. P., J. M. CARANJOT und M. F. JAYLE, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 16, 409 (1967). — 92. CESSI, C. und F. SERAFINI CESSI, *Analytic. Biochem.* 8, 527 (1964). — 93. DUPONT, A., *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 18, 59 (1967). — 94. STEGEMANN, H., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 311, 41 (1958). — 95. RAAB, W., *Dtsch. med. J.* 22, 264 (1971). — 96. AMMA, M. K. P. und H. K. L. TANDON, *Indiana J. med. Res.* 57, 1115 (1969). — 97. WOESSNER, J. F., *Arch. Biochem. Biophysics* 93, 440 (1961). — 98. FREY, J., *Biochim. biophysica Acta*, Amsterdam 111, 440 (1965). — 99. BERGMAN, I. und R. LOXLEY, *Analytic. Chem.* 35, 1961 (1963). — 100. KOEVOET, A. L., *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 12, 232 (1965). — 101. SAIFER, A. und S. GERSTENFELD, *Clin. Chem.*, New York 11, 823 (1965). — 102. KOEVOET, A. L. und J. D. BAARS, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 25, 39 (1969). — 103. FIRSCHEIN, H. E. und J. P. SHILL, *Analytic. Biochem.* 14, 296 (1966). — 104. STALDER, K., *Z. analyt. Chem.* 212, 196 (1965). — 105. DABEW, D. und H. STRUCK, *diese Z.* 7, 498 (1969). — 105a. STEGEMANN, H. und K. STALDER, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 18, 267 (1967). — 106. PROCKOP, D. und S. UDENFRIEND, *Analytic. Biochem.* 1, 228 (1960). — 107. LE ROY, E. C., A. KAPLAN, S. UDENFRIEND und S. SJOERDSMA, *J. biol. Chemistry* 239, 3350 (1964). — 108. LE ROY, E. C., E. D. HARRIS und A. SJOERDSMA, *Analytic. Biochem.* 17, 377 (1966). — 109. KIBRICK, A. C., G. KITAGAWA, H. L. POWER und A. T. MILHORAT, *Clin. Chem.*, New York 12, 549 (1966). — 110. KIVIRIKKO, K. J., O. LAITINEN und D. J. PROCKOP, *Analytic. Biochem.* 19, 249 (1967). — 111. ZIEGLER, H., persönliche Mitteilung, 1971. — 111a. MITCHELL, A. D. und I. E. P. TAYLOR, *Analyst* 95, 1003 (1970). — 112. DREUX, C. und J. LEYMARIE, *Ann. Biol. Clin.*, Paris 26, 641 (1968). — 113. BAKER, R. K., H. FRANCIS und A. POSNER, *Clin. Chem.*, New York 15, 817 (1969). — 114. JONES, J. D., A. C. SKALET und P. C. BURNETT, *Analytic. Biochem.* 37, 194 (1970). — 115. PENNOCK, C. A., G. R. MORRE und M. D. HOYLE, *J. Med. Laborat. Technol.*, London 27, 302 (1970). — 116. ROSANO, C. L., *Analytic. Biochem.* 15, 341 (1966). — 117. AVIOLI, L. V., C. SCHARP und S. J. BIRGE, *Amer. J. Physiol.* 217, 536 (1969). — 118. PROCKOP, D. J. und A. SJOERDSMA, *J. clin. Invest.* 40, 843 (1961). — 119. THEIL, G. B., F. L. BENOIT und R. H. WATTEN, *Amer. J. Digest. Dis.* 8, 1008 (1963). — 120. LEVY, H. L., P. M. MADIGAN und A. LUM, *Amer. J. clin. Pathol.* 51, 765 (1969). — 121. PICOU, D., G. A. O. ALLEYNE und A. SEAKINS, *Clin. Sci.* 29, 517 (1965). — 122. RUTISHAUSER, I. H. E. und R. G. WHITEHEAD, *Brit. J. Nutr.* 23, 1 (1969). — 123. HOWELLS, G. R. und R. G. WHITEHEAD, *J. Med. Laborat. Technol.*, London 24, 98 (1967). — 124. LITVAK, J., J. WORTSMAN und H. PUMARINO, *J. Clin. Endocr.* Springfield 28, 311 (1968). — 125. BELL, N. H., *J. Clin. Endocr.* Springfield 29, 338 (1969). — 126. CRABBÉ, P. und K. J. ISSELBACHER, *Gastroenterology*, Baltimore 48, 307 (1965). — 127. SATWEKAR, K. und A. N. RADHAKRISHNAN, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 12, 394 (1965). — 128. WHITEHEAD, R. G., *Lancet* 1965/II, 567. — 129. EFRON, M. L., E. M. BIXBY, T. D. R. HOCKADAY, L. H. SMITH und E. MESHORER, *Biochim. biophysica Acta*, Amsterdam 165, 238 (1968). — 130. PELKONEN, R. und K. I. KIVIRIKKO, *N. Engl. J. Med.* 283, 451 (1970). — 131. PROCKOP, J., *N. Engl. J. Med.* 283, 487 (1970). — 132. RAY-JONES, C., M. W. BERGMAN, P. H. KITTNER und W. W. PIGMAN, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, N. Y. 115, 85 (1964). — 133. GOIDANICH, I. F., L. LENZI und E. SILVA, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 11, 35 (1965). — 134. ANSON, H. und S. ANSORGE, Symposium „Beziehungen zwischen Haut und Stoffwechsel“ Vortrag, Greifswald, (1966). — 135. JASIN, H. E., C. W. FINK, W. WISE und M. ZIFF, *J. clin. Invest.* 41, 1928 (1962). — 136. ALLISON, D., A. WALKER und Q. T. SMITH, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 14, 729 (1966). — 137. CROWNE, R. S., B. A. WHARTON und R. A. McCANCE, *Lancet* 1969/I, 395. — 138. BENOIT, F., G. B. THEIL und R. H. WATTEN, *Metabolism* 12, 1072 (1963). — 139. WHARTON, B. A., G. R. HOWELLS und R. A. McCANCE, *Nature*, London 215, 968 (1967). — 140. YOUNOSZAI, M. K., A. KACIC, L. DILLING und J. C. HAWORTH, *Arch. Dis. Childhood* 44, 517 (1969). — 141. SMITH, R., M. DEHAN und E. O. R. REYNOLDS, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 21, 491 (1968). — 142. YAMAMOTO, K. und I. MATSUDA, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 22, 648 (1968). — 143. SALEH, A. E. C. und J. N. COENEGRACHT, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 21, 445 (1968). — 144. MOSKOWITZ, R. W., L. KLEIN und D. KATZ, *Arthr. Rheumat.* 8, 61 (1965). — 145. MAUTALEN, C. A. und C. CASCO, *J. Laborat. Clin. Med.*, St. Louis 75, 11 (1970). — 146. RAAB, W., *Wien. klin. Wschr.* 79, 151 (1967). — 147. CERDA, J. J., P. P. TOSKES, N. A. SHOPA und J. H. WILKINSON, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 27, 437 (1970). — 148. CERDA, J. J., P. P. TOSKES und J. H. WILKINSON, *Gastroenterology*, Baltimore 58, 304 (1970). — 149. KLEIN, L. und P. H. CURTISS, *Clin. Res.* 11, 298 (1963). — 150. CZITOBER, H. und W. RAAB, *Wien. Z. Innere Med.* 48, 401 (1967). — 151. MÜHLBACH, R., D. HIRTHE und K. LINDENHAYN, *Z. inn. Med.*, Leipzig 23, 417 (1968). — 152. CZITOBER, H. und W. RAAB, *Deutsch. med. J.* 21, 857 (1970). — 153. SJOERDSMA, A., J. D. DAVIDSON, S. UDENFRIEND und C. MITOMA, *Lancet* 1958/II, 994. — 154. JONES, C. R., M. W. BERGMAN, P. J. KITTNER und W. PIGMAN, *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, N. Y. 116, 931 (1964). — 155. CHRISTIAENS, L., G. BISERTE, G. FONTAINE und J. P. FARRIAUX, *Ann. pédiatr.*, Sem. Hôp., Paris 12, 789 (1965). — 156. LANGNESS, U. und H. BEHNKE, *Klin. Wschr.* 44, 1294 (1966). — 157. LANGNESS, U. und H. BEHNKE, *Dtsch. med. Wschr.* 95, 213 (1970). — 158. DULL, T. A., L. CAUSING und P. H. HENNEMAN, *J. clin. Invest.* 41, 1355 (1962). — 159. GOIDANICH, I. F., L. LENZI und E. SILVA, *Minerva med.*, Torino 56, 1469 (1965), cit. n. Chem. Abstr. 63, 7479f. (1965). — 160. FAGLIA, G. und G. NORBIATO, *Metabolismo* 1, 399 (1965); cit. n. Chem. Abstr. 64, 20490f. (1966). — 161. GOIDANICH, I. F., L. LENZI und E. SILVA, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 11, 35 (1965). — 162. KOCHER, P., R. VUILLE, D. ROVA RINO und B. COURVOISIER, *Helv. med. Acta* 32, 480 (1965). — 163. MÜHLBACH, R., *Beitr. Orthop.* 13, 189 (1966). — 164. BOREL, J. P., J. M. CARANJOT und M. F. JAYLE, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 16, 409 (1967). — 165. HIICO, D., M. GRUSON, A. RYCKEWAERT und S. DE SEZE, *Ann. Biol. Clin.*, Paris 25, 725 (1967). — 166. KRANE, S. M., A. J. MUNOZ und E. D. HARRIS, *Science* 157,

- 713 (1967). — 167. RAAB, W. und H. CZITOBER, Wien. klin. Wschr. 79, 91 (1967). — 168. BIJVOET, O. L. M., J. VAN DER SLUYSVEER und A. P. JANSEN, *Lancet* 1968/I, 876. — 169. AVIOLI, L. V. und P. H. HENNEMAN, *Dyn. Studies Metab. Bone Dis.* 1964, 185. — 170. RUBEGNI, M., G. RAVENNI und F. PUCETTI, *Giorn. Geront.* 10, 427 (1962). — 171. SMITH, D. A. und B. E. C. NORDIN, *Proc. Roy. Soc. Med., London* 57, 868 (1964). — 172. RAVENNI, G., M. RUBEGNI und L. DEL GIOVANE, *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 38, 266 (1962). — 173. LENZI, F., G. RAVENNI, M. RUBEGNI und L. DEL GIOVANE, *Panminerva Med.* 5, 155 (1963). — 174. DUBOWSKY, J., V. PACOVSKY und E. SILINKOVA-MALKOVA, *Z. innere Med., Leipzig* 21, 231 (1966). — 175. FORCONI, S., S. RUBEGNI, M. BENCINI und G. RAVENNI, *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 42, 1545 (1966). — 176. RUBEGNI, M., S. FORCONI, M. BENCINI und G. RAVENNI, *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 42, 1547 (1966). — 177. Editorial article, *Lancet* 1968/I, 1018. — 178. SMITH, R. und M. DICK, *Lancet* 1968/I, 279. — 179. SMITH, R. und M. DICK, *Clin. Sci.* 35, 575 (1968). — 180. SMITH, R. und M. DICK, *Clin. Sci.* 34, 43 (1968). — 181. KLEIN, L., *Clin. Res.* 13, 418 (1965). — 182. KLEIN, L. und S. VAN DEN NOORT, *Clin. Res.* 13, 327 (1965). — 183. RUBEGNI, M., G. F. GAROSI, L. DEL GIOVANE und G. RAVENNI, *Atti Accad. fisiocrit., Siena* 11, 1 (1962). — 184. EMMRICH, R., H.-J. HÄNTZSCHEL und H. HÄNTZSCHEL, *Z. inn. Med., Leipzig* 22, 193 (1967). — 185. HERZBERG, M., Z. OBERMAN, O. KHERMOSH und S. L. WEISSMAN, *Clin. Chem., New York* 16, 853 (1970). — 185a. KLEIN, L. und P. H. CURTISS, *J. Bone Joint Surg.* 45A, 1542 (1963). — 186. SCHWÄGERL, W. und W. RAAB, *Z. Orthop., Stuttgart* 104, 407 (1968). — 187. PLATT, W. D., L. H. DOOLITTLE und J. W. S. HARTSHORN, *N. Engl. J. Med.* 271, 287 (1964). — 188. HOSLEY, H. F., E. G. TAFT, K. B. OLSON, S. GATES und R. T. BEEBE, *Arch. int. Med.* 118, 565 (1966). — 189. IMMERGUT, M., C. D. NORDSCHOW, A. R. TAMMES und R. H. FLOCKS, *J. Urol.* 96, 570 (1966). — 190. Editorial article, *J. Amer. med. Ass.* 198, 1208 (1966). — 191. RAAB, W. und W. SCHWÄGERL, *Wien. klin. Wschr.* 79, 32 (1967). — 192. DITZEL, J., R. JORDAL und N. RISKAER, *Acta endocr., Copenhagen* 59, 353 (1968). — 193. HOSLEY, H. F., *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 8, 32 (1967). — 194. PEREYRA, B., *Amer. J. Surg.* 115, 777 (1968). — 195. KIBRICK, A. C. und A. T. MILHORAT, *Proc. Soc. exper. Biol. Med., N. Y.* 131, 1424 (1969). — 196. KLEIN, L., K. ALBERTSEN und P. H. CURTISS, *Metabolism* 11, 1023 (1962). — 197. JOHNSTON, C. C. und W. P. DEISS, *Metabolism* 14, 523 (1965). — 198. JOHNSTON, N. G., G. A. LEE und H. M. LLOYD, *Metabolism* 15, 1084 (1966). — 199. SMITH, R., *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 18, 47 (1967). — 200. HARTMANN, F., *Arch. klin. Med.* 215, 97 (1968). — 201. GERLACH, U., L. PAUL und H. LATZEL, *Enzymol. Biol. Clin.* 11, 251 (1970). — 202. RAAB, W. und H. CZITOBER, *Wien. klin. Wschr.* 83, 11 (1971). — 203. NEX, R. L., J. R. GRILL, H. R. KEISER und F. C. BARTTER, *J. clin. Endocr., Springfield* 26, 815 (1966). — 204. KALIMA, T., K. I. KIVIRIKKO, O. LAITINEN und J. UITTO, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 19, 443 (1968). — 205. SMITH, R., *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 23, 421 (1969). — 206. KEISER, H. R., J. R. GILL, A. SJOERDAMA und F. G. BARTTER, *J. clin. Invest.* 43, 1073 (1964). — 207. DUBOVSKY, J., J. HRBA und A. PACOVSKY, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 17, 107 (1967). — 208. DANOWSKI, T. S., G. P. RODMAN, M. E. SARVER und C. MOSES, *Metabolism* 13, 729 (1964). — 209. KIVIRIKKO, K. I., O. LAITINEN und B. A. LAMBERG, *J. clin. Endocr., Springfield* 25, 1347 (1965). — 210. RUBEGNI, M., C. GENNARI, C. RAVENNI, S. FORCONI und M. BENCINI, *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 41, 355 (1965). — 211. PROCKOP, D. J. und K. I. KIVIRIKKO, *Ann. intern. Med.* 66, 1243 (1967). — 212. UITTO, J., O. LAITINEN, B. A. LAMBERG und K. I. KIVIRIKKO, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 22, 583 (1968). — 213. CHIUMELO, G. und M. J. DELGUERCIO, *Minerva pediatri., Torino* 17, 1069 (1965). — 214. BONADONNA, G., M. SONENBERG und M. J. MERLINO, *Metabolism* 14, 832 (1965). — 215. MATIASSEVIC, D. und H. GERSHBERG, *Metabolism* 15, 720 (1966). — 216. WARD, D. J., M. HARTOG und B. M. ANSELL, *Ann. Rheum. Dis.* 25, 416 (1966). — 217. WINKLER, G., H. BURKHARDT und K. ROMMEL, *Horm. Metab. Res.* 1, 147 (1969). — 218. STEPAN, J. und L. MARSIKOVA, *Acta rheumatol. scand.* 12, 300 (1966). — 219. HENNEMAN, D. H., *Endocrinology* 83, 678 (1968). — 220. KATZ, F. H., *J. Laborat. clin. Med., St. Louis* 68, 886 (1966). — 221. KATZ, F. H., *Acta endocr., Copenhagen* 58, 664 (1968). — 222. KATZ, F. H. und A. KAPPAS, *J. Laborat. clin. Med., St. Louis* 71, 65 (1968). — 223. ZIFF, M., A. KIBRICK, E. DRESNER und H. J. GRIBETZ, *J. clin. Invest.* 35, 579 (1956). — 224. KIBRICK, A. C., C. Q. HASHIRO und L. B. SAFIER, *Proc. Soc. exper. Biol. Med., N. Y.* 109, 473 (1962). — 225. HARTMANN, F., *Klin. Wschr.* 44, 1053 (1966). — 226. HARTMANN, F., J. ROHDE und A. SCHMIDT, *Z. Rheumaforsch.* 28, 447 (1969). — 227. TRNAVSKA, Z. und K. TRNAVSKY, *Nature, London* 214, 384 (1967). — 228. KLEIN, L., P. H. CURTISS und J. H. DAVIS, *Surg. Forum* 13, 459 (1962). — 229. ESTES, F. L. und T. G. BLOCKER, *Texas Rep. Biol. Med.* 24, 54 (1966). — 230. DEMIS, D. J. und B. M. McALLISTER, *J. clin. Invest.* 46, 1049 (1967). — 231. KLEIN, L. und J. H. DAVIS, *Surg. Forum* 15, 465 (1964). — 232. JACKSON, S. H., *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 12, 389 (1965). — 233. JACKSON, S. H. und T. G. ELLIOTT, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 23, 97 (1969). — 234. KORTING, G. W. und H. HOLZMANN, *Klin. Wschr.* 43, 361 (1965). — 235. BRUNISH, R. und D. SORESENSEN, *Dermatologica, Basel* 130, 165 (1965). — 236. CHERIAN, M. G., A. B. A. KARAT und A. N. RADHAKRISHNAN, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 25, 395 (1969). — 237. MASSARO, D., A. E. HANDLER, S. KATZ und R. C. YOUNG, *Amer. Rev. Respir. Dis.* 93, 929 (1966). — 238. UITTO, J., P. TANI und H. PIHKO, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 32, 265 (1971). — 239. FINLAYSON, G. R., J. G. SMITH und G. M. J. MORRE, *J. Amer. med. Ass.* 187, 659 (1964). — 240. DANELATOS-ATHANASSIADIS, C., N. S. CONSTANTAS, A. S. AGATHOPOULOS und N. S. MATASANIOTIS, *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 23, 153 (1968). — 241. KEISER, H. R. und A. SJOERDAMA, *Clin. Pharmacol. Ther.* 8, 593 (1967). — 242. NELLAS, C. L., N. CRAWFORD und A. L. SCHERBEL, *Clin. Pharmacol. Ther.* 6, 367 (1965). — 243. KIBRICK, A. C., C. HASHIRO, M. WALTERS und A. T. MILHORAT, *Proc. Soc. exper. Biol. Med., N. Y.* 115, 662 (1964). — 244. SCHOENHEYDER, F., C. ZIMMERMAN-NIELSEN und H. C. ANDERSEN, *Arch. Otolaryngol.* 84, 495 (1966). — 245. KIBRICK, A. C., H. L. POWER, E. SEVENDAL und A. T. MILHORAT, *J. clin. Endocr., Springfield* 28, 1113 (1968). — 246. EMMRICH, R., *Z. innere Med., Leipzig* 24, 747 (1969). — 247. KLEIN, L., *Metabolism* 13, 386 (1964). — 248. KLEIN, L., F. W. LAFFERTY, O. H. PEARSON und P. H. CURTISS, *Metabolism* 13, 272 (1964). — 249. GENNARI, C., M. RUBEGNI, S. FORCONI und S. ROMANO, *Boll. Soc. ital. biol. sper.* 41, 508 (1965). — 250. GRUSON, M., L. MIRAVET und D. HIOCO, *Ann. Biol. Clin., Paris* 25, 711 (1967). — 251. BONADONNA, G., M. J. MERLINO, W. P. L. MYERS und M. SONENBERG, *N. Engl. J. Med.* 275, 298 (1966). — 252. COURVOISIER, B. und R. ZENDER, *Helv. med. Acta* 35, Suppl. 50, 138 (1970). — 253. STEPHAN, J. und A. BREMOVA, *Acta rheumatol. scand.* 13, 150 (1967). — 254. RUSSELL, R. G. G. und A. HODGKINSON, *Clin. Sci.* 36, 435 (1969). — 255. HAURY, H., *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* 10, 25 (1972). — 256. COURVOISIER, B. und R. ZENDER, *Schweiz. med. Wschr.* 102, 160 (1972).

Univ. Doz. Dr. W. Raab
Währingerstraße 10
A-1090 Wien
Österreich